

Impacto de agroquímicos sobre los ensambles de macroinvertebrados en arroyos rurales



Lic. Marrochi, María Natalia

Director: Dr. Bonetto, Carlos

Director: Dr. Mugni, Hernán

*A Maia y Victor,
mis complementos*

Agradecimientos

A mis directores Carlos Bonetto y Hernán Mugni por haberme dirigido, guiado e incentivado durante la realización de este trabajo. Por la confianza brindada en el transcurso de mis años como pasante y becaria. Por regañarme y apurarme con la escritura de la tesis; pero sobre todo porque nunca dejaron de aconsejarme, escucharme, acompañarme y pensar siempre en mi bienestar.

A mis compañeros de laboratorio por su gran colaboración y aguante: a Any Scalise, compañera de viaje y de vida, por todos los momentos vividos; Marina Solis por su apoyo, consejos e incentivo permanente; Marina Arias por sus conocimientos en plantas acuáticas; Ignacio García por sus consejos; Ariel Paracampo por su invaluable colaboración con la estadística de los datos aquí presentados y recomendaciones de manera desinteresada y, especialmente, a Silvia Fanelli por sus determinaciones químicas y el apoyo logístico y moral en la escritura de la tesis. Gracias a todos por sus aportes y gran compañerismo.

Agradezco a Lisa Hunt por su camaradería y empeño para realizar las gestiones necesarias a fin de concretar los muestreos en Brasil y Paraguay.

A todas las personas que compartimos diariamente el ILPLA. A Melina Mauad y Raúl Campos por su ayuda con las primeras determinaciones y problemáticas taxonómicas. A Hernán Benitez por las campañas compartidas en La Plata.

Agradezco a mis padres, Marisa y Walter, por su tenacidad y enseñanzas de vida. A mis hermanos Eli, Otto y Cony por estar siempre a mi lado. A Noe, Victor y Diego, mi otra gran familia, que me acompañan a concretar mis metas. A mis amores Victor y Maia. Sin todos ustedes no podría haberlo logrado.

A mis amigos de la vida, los que están siempre a mi lado.

Gracias a los jurados Carolina Ocon, Pablo Collins y Karina Miglioranza por sus sugerencias y correcciones.

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, CONICET e ILPLA por brindarme los medios para la realización de esta tesis.

Índice

<i>Resumen</i>	6
<i>Abstract</i>	9
<i>Introducción</i>	12
Objetivos	19
Hipótesis	20
<i>Ensayos de toxicidad</i>	21
Objetivos específicos	22
Materiales y métodos	22
Distribuciones de Sensibilidad de Especies	24
Resultados	25
Discusión	30
<i>Estudio de campo</i>	33
Materiales y métodos	34
Área de estudio	34
Datos ambientales	40
Análisis de Nutrientes	43
Análisis de Agrotóxicos	44
Cálculo de Unidades Tóxicas (UT)	45
Muestras de Macroinvertebrados	45
Análisis Estadístico	48
Región Pampeana (Argentina)	52
Resultados	52
<i>1ª Etapa: Arroyos con distinto uso del suelo en sus cuencas</i>	52
Variables ambientales	52
Agrotóxicos	53

Unidades Tóxicas (UT)	55
Ensamble de macroinvertebrados	56
Relaciones del ensamble de macroinvertebrados con los agrotóxicos y parámetros físico-químicos	61
Relaciones con las características del hábitat	62
<i>2ª Etapa: Arroyos de cuencas agrícolas (Arrecifes 2011-2014)</i>	66
Variables ambientales	66
Agrotóxicos	67
Unidades Tóxicas (UT)	69
Ensamble de macroinvertebrados	70
Relaciones del ensamble de macroinvertebrados con los agrotóxicos y variables ambientales	82
Relaciones con las características del hábitat	84
Discusión	89
Selva Paranaense (Paraguay y Brasil)	100
Resultados	100
Variables ambientales	100
Agrotóxicos	102
Unidades Tóxicas (UT)	104
Ensamble de macroinvertebrados	106
Influencia de la franja de atenuación	111
Relaciones del ensamble de macroinvertebrados con el RBP	112
Relaciones del ensamble de macroinvertebrados con los agrotóxicos	113
Relaciones con las características del hábitat	114
Discusión	116
Conclusiones	124
Bibliografía	128
Anexos	140

Resumen

La creciente adopción de sistemas productivos basados en la siembra directa, junto con el uso de agroquímicos y la introducción de semillas modificadas genéticamente permitió extender la superficie sembrada de los cultivos, principalmente de soja. Es en el sur de América Latina donde este cambio tecnológico se ha implementado con mayor velocidad e intensidad. En Argentina, el área sembrada del cultivo de soja aumentó de 4,9 a 20,5 millones de hectáreas desde la campaña 90/91 hasta el presente; en Brasil, el área cultivada con soja se incrementó en 126% durante el período 1995/2011 y en Paraguay, aumentó de 1,3 a 3,5 millones de hectáreas entre el 2000 y el 2015. La misma tendencia se observa con el consumo de agrotóxicos y fertilizantes para las tres regiones. Los biocidas más utilizados en nuestra región son el herbicida glifosato y los insecticidas cipermetrina, clorpirifos y endosulfán. El organoclorado endosulfán fue prohibido en Argentina, a partir de 2013.

El objetivo del presente trabajo de tesis es estudiar el impacto de la práctica agrícola sobre los ensambles de macroinvertebrados acuáticos de cuencas rurales, poniendo especial énfasis en el efecto producido por los agroquímicos. Se compararon los ensambles de macroinvertebrados, las características físicas y químicas del agua, las concentraciones de agrotóxicos en sedimentos y la calidad del hábitat en arroyos que atraviesan zonas con uso intensivo del suelo y arroyos de características similares, en cuyas cuencas no se realiza agricultura intensiva y/o poseen franjas de atenuación cubiertas por vegetación.

En el laboratorio se realizaron ensayos de toxicidad para determinar la concentración letal (LC_{50}) de los agrotóxicos más utilizados (cipermetrina, lambda-cialotrina, endosulfán, clorpirifos) en el anfípodo *Hyaella curvispina* en agua y sedimento. La sensibilidad de *H. curvispina* fue comparada con la de otras especies por medio de la curva de distribución de sensibilidad de especies (SSDs). El piretroide lambda-cialotrina registró los valores de LC_{50} más bajos, seguido de cipermetrina, clorpirifos y endosulfán. Se observó que la sensibilidad de *H. curvispina* es similar a la de *H. azteca*, comúnmente utilizado como organismo indicador de contaminación en

América del Norte, y que ambos organismos son más sensibles que la mayoría de los taxones de invertebrados de agua dulce.

Los arroyos estudiados se encuentran en áreas agrícolas de Argentina, Paraguay y Brasil. Los muestreos se realizaron durante el período de crecimiento de la soja, correspondiente a los meses de noviembre a abril. En Argentina se llevó a cabo el estudio durante un período de tres años y se monitorearon 23 arroyos ubicados en dos regiones de La Pampa argentina, incluyendo una región de producción intensiva de soja, en Arrecifes, y una región mixta: agrícola y ganadera, en La Plata. En el año 2013 se estudiaron dos regiones de la Selva Paranaense: 17 arroyos en Paraguay ubicados sobre la cuenca del río Pirapó, departamento de Itapúa y 18 arroyos en Brasil en Toledo, estado de Paraná. Ambas regiones poseen producción intensiva de soja y una legislación que exige a los productores dejar una franja sin cultivar entre el cultivo y los arroyos.

En la región Pampeana se determinó que los ensambles de macroinvertebrados registraron diferencias significativas entre arroyos con distinto uso del suelo en sus cuencas (agrícolas, ganaderos y reserva). Las mayores concentraciones de nutrientes y la presencia de agrotóxicos se registraron en los arroyos de cuencas donde la agricultura fue la actividad dominante. Asimismo, en los arroyos agrícolas se registraron los mayores valores de Unidad Tóxica total (UT) alcanzando, en algunos sitios, valores extremos mayores a la unidad. Se observó que en los sitios menos disturbados la dominancia correspondió a Hyalellidae (Amphipoda), Palaemonidae (Decapoda) y Caenidae (Ephemeroptera), considerados sensibles a los agrotóxicos, mientras que en los sitios más disturbados Gastropoda, Oligochaeta e Hirudinea, considerados tolerantes, fueron los taxones mejor representados. En la Selva Paranaense se observó que la mayor riqueza taxonómica y abundancia correspondió a los arroyos estudiados de Paraguay, como así también los índices de diversidad y equitatividad. Los taxones Coleoptera, Ephemeroptera y Trichoptera resultaron ser más abundantes en Paraguay y registraron una correlación inversa con la concentración de los biocidas. Por el contrario, los taxones Diptera y Bivalvia fueron más abundantes en Brasil y registraron correlación positiva con la concentración de algunos agrotóxicos. Cabe destacar, que el ancho de la franja de atenuación en Paraguay fue mayor y menos variable que en los arroyos estudiados de Brasil.

En los sedimentos analizados de los arroyos de Argentina, en cuencas con producción intensiva de soja, Brasil y Paraguay se detectó la presencia de todos los biocidas utilizados con mayor frecuencia en los cultivos regionales. Sin embargo, el impacto de los mismos sobre los taxones sensibles estaba más claramente correlacionado en los arroyos pampeanos. Una posible razón de esta discrepancia puede ser que las franjas de atenuación de los arroyos de Argentina son mucho más pequeñas y no están forestadas, por lo que las comunidades de invertebrados no serían tan resilientes. Estos resultados confirmarían el efecto protector de las franjas de atenuación y ponderan su utilidad como norma de manejo para mitigar el impacto agrícola.

En la presente tesis se observaron reiteradamente correlaciones positivas entre la concentración de PRS y la concentración de agrotóxicos y negativas entre el PRS y la abundancia de algunos grupos taxonómicos. Su correlación no significa una relación causa efecto sino la simultaneidad de su aplicación con los agrotóxicos y su similar comportamiento ambiental, por lo cual, resulta un buen indicador del impacto agrícola. Asimismo, se determinaron las variables ambientales que tienen mayor influencia en la composición de los ensambles de macroinvertebrados, entre ellos se encuentran la materia orgánica y textura de los sedimentos.

En este estudio se concluye que la exposición a los agrotóxicos contribuye a las diferencias observadas en la composición del ensamble de macroinvertebrados en arroyos con distinto uso del suelo en sus cuencas. Aquellos arroyos que atraviesan zonas con uso intensivo del suelo sin franja de atenuación poseen una fauna con mayor abundancia de taxones tolerantes a los agrotóxicos y una disminución o ausencia de taxones sensibles. Se concluye también que los ensambles de macroinvertebrados son una herramienta eficaz para evaluar ecosistemas acuáticos y sus respuestas a los cambios en el uso del suelo de la cuenca.

Abstract

The increasing adoption of productive systems based on direct sowing, together with the use of agrochemicals and the introduction of genetically modified seeds increased the sown area of the crops, mainly soybean. It is in southern Latin America where this technological change has been implemented with greater speed and intensity. In Argentina, the area planted with soybean increased from 4.9 to 20.5 million hectares from 1990/91 up to the present; in Brazil, the area cultivated with soybeans increased by 126% during the period 1995/2011 and in Paraguay, increased from 1.3 to 3.5 million hectares between 2000 and 2015. The same trend is observed with the consumption of pesticides and fertilizers for the three regions. The most used biocides in our region are the glyphosate herbicide and the cypermethrin, chlorpyrifos and endosulfan insecticides. The organochlorine endosulfan has been prohibited in Argentina, since 2013.

The objective of this thesis is to study the impact of the agricultural practice on the assemblage of aquatic macroinvertebrates of rural basins, with special emphasis on the effect produced by agrochemicals. The assemblage of macroinvertebrates, the physical and chemical characteristics of the water, the concentrations of agrochemicals in sediments and the quality of the habitat in streams adjacent to plots with different land use were compared.

Laboratory toxicity tests were performed to determine the lethal concentration (LC50) of the most commonly used agROTOXICS (cypermethrin, lambda-cyhalothrin, endosulfan, chlorpyrifos) for the amphipod *Hyaella curvispina* in water and sediment. The sensitivity of *H. curvispina* was compared with the sensitivity of other species by means of the species sensitivity distribution curve (SSDs). The pyrethroid lambda-cyhalothrin registered the lowest LC50 values, followed by cypermethrin, chlorpyrifos and endosulfan. It was observed that the sensitivity of *H. curvispina* is similar to *H. azteca*, a commonly used test organism in North America, and that both organisms are more sensitive than most freshwater invertebrate taxa.

The streams studied are found in agricultural areas of Argentina, Paraguay and Brazil. The samplings were made during the period of soybean growth, corresponding

to the months of November to April. In Argentina, the study was conducted over a three years period and 23 streams were monitored in two regions of the Argentine Pampa, including a region of intensive soy production, in Arrecifes, and a mixed region: agricultural and livestock, in La Plata. Two regions of the Paranaense Forest were studied in 2013: 17 streams in Paraguay located on the Pirapó river basin, Itapúa department and 18 streams in Brazil in Toledo, Paraná state. Both regions have intensive soy production and legislation that requires farmers to leave a strip of uncultivated land between the crop and the streams.

In the Pampean region it was shown that the assemblage of macroinvertebrates registered significant differences between streams with different land use in their basins (agricultural, livestock and reserve). The highest concentrations of nutrients and the presence of agrotoxics were recorded in the streams of basins where agriculture was the dominant activity. Likewise, in the agricultural streams the highest values of Total Toxic Unit (TU) were recorded, reaching, in some places, extreme values greater than unity. It was observed that in the least disturbed sites the dominance corresponded to Hyalellidae (Amphipoda), Palaemonidae (Decapoda) and Caenidae (Ephemeroptera), considered sensitive to the agrotoxics, while in the most disturbed site Gastropoda, Oligochaeta and Hirudinea, considered tolerant, were the taxa best represented. In the Paranaense Forest it was observed that the highest taxonomic richness and abundance corresponded to the studied streams of Paraguay, as well as diversity and equitability indexes. Coleoptera, Ephemeroptera and Trichoptera were found to be more abundant in Paraguay and showed an inverse correlation with the concentration of the biocides. On the contrary, Diptera and Bivalvia were more abundant in Brazil and showed a positive correlation with the concentration of some agrotoxics. It is noteworthy that the width of the attenuation strip in Paraguay was greater and less variable than in the streams studied in Brazil.

In the analyzed sediments of the streams of Argentina, in basins with intensive soybean production, Brazil and Paraguay, the presence of all the biocides most frequently used in regional crops was detected. However, the impact of them on sensitive taxa was more clearly correlated in the Pampean streams. One possible reason for this discrepancy may be that the attenuation strips of stream in Argentina are much smaller and are not forested, so that invertebrate communities would not be so resilient.

These results confirm the protective effect of the attenuation strips and their usefulness as a management practice to mitigate the agricultural impact.

In the present thesis, positive correlations were observed between the PRS concentration and the concentration of agrotoxics and negatives between the PRS and the abundance of some taxonomic groups. Its correlation does not mean a cause-effect relationship but the simultaneity of its application with agrotoxics and its similar environmental behavior, which is a good indicator of agricultural impact. The environmental variables that have the greatest influence on the composition of the macroinvertebrate assemblage were determined; among them are the organic matter content and texture of the sediments.

In this study it is concluded that the exposure to agrotoxics contribute to the observed differences in the composition of the macroinvertebrate assemblage in streams with different land use in their basins. Draining basins with intensive land use without attenuation strips possess a fauna with greater abundance of taxa tolerant to the agrotóxicos and a decreased or absence of sensible taxa. It is also concluded that the assemblage of macroinvertebrates is an effective tool to evaluate aquatic ecosystems and their responses to changes in the land use from the adjacent fields.

Introducción

Objetivos e Hipótesis

INTRODUCCIÓN

La siembra directa de cultivos asociada con la implementación de soja transgénica, glifosato y aplicación intensiva de agroquímicos ha revolucionado la forma de hacer agricultura en el mundo. Sin embargo, es en el cono sur de América Latina donde este cambio tecnológico se ha implementado con mayor velocidad e intensidad (Ekboir, 2001). En Estados Unidos, esta modalidad es aplicada en sólo 25% del área agrícola total. La tasa de adopción en Argentina, Paraguay y Brasil representa aproximadamente 70-75% (Derpsch, 2010).

El área sembrada con los cuatro cultivos principales: soja, girasol, maíz y trigo aumentó de 15,7 millones de hectáreas en 1990/91 a 33,2 millones en 2015/16 en Argentina; siendo la soja el cultivo que mostró el mayor aumento (de 4,9 a 20,5 millones de hectáreas). Paralelamente, la producción ganadera se intensificó, concentrándose en unidades denominadas “feed lots”, y se trasladó a zonas tradicionalmente marginales (MAGyP, 2017). El consumo de fertilizantes aumentó de 0,4 a 2,4 millones de toneladas desde principios de la década del 90 al 2015 (CIAFA, 2015). El consumo de biocidas se acrecentó de 39 millones de kilogramos o litros en 1991 (Moltoni, 2012) hasta 336 millones de kilogramos o litros en 2011 (CASAFE, 2012). Los agrotóxicos más utilizados en el cultivo de soja correspondieron al herbicida glifosato y los insecticidas cipermetrina, clorpirifos y endosulfán (Mugni et al., 2012). Este último fue utilizado en cultivos extensivos y representó uno de los pesticidas del mercado con mayor persistencia en el ambiente, alta capacidad de bioacumulación y su eventual traslado a grandes distancias de los sitios de aplicación (Astoviza *et al.*, 2015). Como consecuencia de ello, en la V Reunión de las Partes del Convenio de Estocolmo sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs), se prohibió el uso del endosulfán en todo el mundo (UNEP, 2011). En Argentina se prohibió a partir del 1 de julio de 2013 mediante la resolución 511/11 del SENASA, la elaboración, formulación, comercialización y el uso de todos los productos que contengan el principio activo endosulfán. En Brasil, el gobierno fijó un plazo 3 años a partir del 31 de julio de 2010, para retirar todos los productos formulados a base de endosulfán del mercado brasileño (ANVISA-RDC N° 28); mientras que, en Paraguay, la prohibición fue a partir del año 2010 (SENAVE-Resolución 635/10). Esto implica un aumento de la utilización de insecticidas sustitutos como el piretroide lambda-cialotrina. El proceso de incremento en la superficie sembrada con soja ligado a la adopción de un paquete tecnológico

basado en la utilización de semillas modificadas genéticamente y del herbicida glifosato presenta características similares en todos los países que conforman el MERCOSUR: en Uruguay desde comienzos del 2000 se vienen desarrollando cambios muy importantes en el sector agropecuario vinculados a la explosiva inclusión del cultivo de soja; en Brasil la producción total de granos se incrementó de 81 millones de toneladas en 1995 a cerca de 130 millones de toneladas en 2006 entre las cuales cerca de 59 millones corresponden al cultivo de soja (Bejarano *et al.*, 2008) y el área del mismo se expandió en 126% durante el período 1995/2011 (Castanheira & Freire, 2013). En Paraguay, el área de cultivo de soja aumentó de 1,3 millones de hectáreas en 2000/01 a 3,5 millones de hectáreas en 2014/15 (García-Lopez & Arizpe, 2010; DGEEC, 2015). En Brasil, los insecticidas del grupo diamida y los inhibidores del crecimiento son cada vez más utilizados para controlar las plagas de lepidópteros, mientras que las mezclas de neonicotinoides y piretroides se utilizan a menudo para controlar las plagas de hemípteros (Bueno *et al.*, 2011). Además, el insecticida sistémico imidacloprid (neonicotinoide) se aplica comúnmente en Paraguay y Brasil para el tratamiento de semillas y más tarde sobre el cultivo en forma de aerosol junto con piretroides.

Los cambios en el uso del suelo causados por esta expansión del cultivo de soja provocan la degradación de los ecosistemas acuáticos adyacentes a través de múltiples mecanismos. Entre los factores de estrés relacionados con la agricultura se pueden incluir enriquecimiento de nutrientes, sedimentación, deforestación y canalización (Jones *et al.*, 2001; Gücker *et al.*, 2009; Matthaei *et al.*, 2010).

Si bien existe abundante información disponible en la literatura sobre la toxicidad de numerosos agrotóxicos en experimentos de laboratorio para varias especies en condiciones estándar, los estudios sobre el efecto de los mismos en condiciones ambientales más complejas y realistas, donde las poblaciones interactúan entre sí, se reducen a un número sensiblemente menor. En la bibliografía aparecen trabajos que determinan concentraciones de algún tóxico utilizado en la cuenca y el efecto inmediato producido, típicamente la disminución en la densidad y eventualmente desaparición de algún organismo considerado indicador de contaminación. Schulz & Liess (1999a) observaron la desaparición de 8 de 11 especies de invertebrados con posterioridad a un pulso de paratión, un insecticida organofosforado, producido por la escorrentía superficial de los cultivos en un pequeño arroyo de Alemania. Schulz & Liess (1999b) registraron mortalidad del anfípodo *Gammarus pulex* y del tricóptero *Limnephilus*

lunatus en pulsos de contaminación del piretroide fenvalerato, producidos por la escorrentía superficial. En nuestra región, Jergentz *et al.* (2004 a, b) determinaron pulsos de toxicidad en arroyos con cuencas cultivadas de Arrecifes-Pergamino, provincia de Buenos Aires, asociados a eventos de escorrentía superficial. Paralelamente, estudiaron la dinámica de la población residente y realizaron bioensayos in situ con dos especies locales de crustáceos: *Hyalella curvispina* y *Macrobrachium borellii* concluyendo que existía una correspondencia entre la presencia de clorpirifos en sedimento, la densidad de la fauna local y la mortalidad observada en los bioensayos. Asimismo, determinaron que la metodología utilizada de exposición de organismos es un indicador sensible y confiable de la toxicidad para la población residente. Marino & Ronco (2005) y Jergentz *et al.* (2005) determinaron la concentración de agrotóxicos en un arroyo que nace en una parcela cultivada con soja cercano a Arrecifes donde el responsable de la producción informaba con anterioridad los momentos de aplicación. La concentración de cipermetrina, clorpirifos y endosulfán fueron analizadas en aguas y sedimentos. Las mayores concentraciones se registraron en los sedimentos de fondo después de la primer lluvia con posterioridad a la aplicación y decayeron en un período cercano a un mes. Las concentraciones fueron mayores en la parcela fumigada, disminuyendo aguas abajo. Los valores en agua fueron órdenes de magnitud menores a las determinadas en sedimentos. Mugni *et al.* (2011a) estudiaron la persistencia de la toxicidad en las nacientes de un arroyo que atraviesa un campo cultivado y detectaron pulsos de toxicidad efímeros producidos por las aplicaciones de cipermetrina y clorpirifos. La toxicidad introducida en el arroyo por la escorrentía superficial de la primer lluvia con posterioridad a la aplicación es el proceso más importante. Asimismo, la toxicidad es mayor que la introducida por la deriva de la fumigación e incluso mayor que la producida por aplicaciones aéreas, donde el arroyo recibe la misma carga que el cultivo. El tiempo transcurrido entre la aplicación y la primera lluvia es crítico. Cuando la primera lluvia se produjo con posterioridad al mes de la aplicación, no registraron toxicidad en la escorrentía. Cuando el período transcurrido fue menor al mes, la mortalidad de *H. curvispina* fue total.

Cabe interrogarse respecto de la persistencia del efecto de los reiterados pulsos de toxicidad en el tiempo en los ambientes naturales adyacentes a cultivos. La comunidad tiene mecanismos homeostáticos. La ocurrencia de un único pulso de toxicidad producido en un sector de la cuenca se revierte con el tiempo porque habrá un

repoblamiento de los grupos afectados por migración desde otros sectores o refugios (Orlinskiy *et al.*, 2015). No obstante, si el ambiente se encuentra en una cuenca que recibe sucesivos pulsos de toxicidad en distintas oportunidades, con distintos tóxicos, y en áreas cada vez mayores de la misma, es probable que haya un deterioro paulatino de la calidad del agua y una pérdida definitiva de diversidad.

El estudio de los ensambles de macroinvertebrados es una alternativa metodológica utilizada para detectar modificaciones en los ecosistemas acuáticos (Plafkin *et al.*, 1989). Este enfoque asume que la composición del ensamble funciona como bioindicador reflejando el estado de un cuerpo de agua (Rosenberg & Resch, 1993; Hering *et al.*, 2004). En nuestro medio, varios autores enfocaron el estudio de los ensambles de invertebrados como bioindicadores de calidad de aguas y la aplicación de índices bióticos para detectar variados impactos, desde contaminación industrial (Gomez *et al.*, 2008), el efecto del uso del suelo (Miserendino & Pizzolón, 1999; Rodrigues-Capítulo *et al.*, 2001; Corigliano *et al.*, 2005; Miserendino *et al.*, 2008; Miserendino *et al.*, 2011; Solis *et al.*, 2016; Solis *et al.*, 2017) como así también por distintos tipos de hábitats (Velasquez & Miserendino, 2003). Domínguez & Fernández (1998) determinaron el estado de los ríos de Tucumán en base a su fauna bentónica. Miserendino *et al.* (2011) estudiaron las diferencias en la composición de los ensambles de invertebrados en arroyos de cuencas de estepa, pasturas, bosque natural e implantado, y urbanos, en Patagonia, y concluyeron que los distintos usos del suelo modifican la composición de los ensambles y que puede ser utilizada para el monitoreo de la calidad ambiental de los cuerpos de agua regionales. Ocón & Rodrigues-Capítulo (2004) investigaron las comunidades bentónicas de arroyos y ríos de distintas áreas de la región Pampeana afectados principalmente por efluentes urbanos e industriales.

Estudios realizados en microcosmos con diferentes agroquímicos registraron cambios en la estructura de la comunidad de invertebrados. Friberg-Jensen *et al.* (2003) estudiaron el efecto del agregado de cipermetrina en concentraciones crecientes en mesocosmos suspendidos en un lago somero. En todos los tratamientos la concentración de cipermetrina disminuyó rápidamente. El efecto fue la rápida disminución en la densidad de cladóceros y copépodos y el aumento de rotíferos, bacterias y fitoplancton. Giddings *et al.* (2001) recopilaron estudios sobre el efecto de cipermetrina en comunidades de mesocosmos y en ambientes naturales, registrando una diferencia en la sensibilidad de anfípodos, isópodos, culícidos, copépodos y cladóceros (más sensibles)

respecto a peces, moluscos, oligoquetos y rotíferos (menos sensibles). Con pocas excepciones, poblaciones afectadas por piretroides en los mesocosmos se recuperaron a niveles normales antes del final del año desde la exposición; la mayor parte de poblaciones se recuperaron dentro de unas pocas semanas. En nuestra región, Solis *et al.* (2016) compararon el ensamble de invertebrados en arroyos de cuencas con distinto grado de disturbio ocasionado por la actividad agrícola y ganadera en la región Pampeana, Argentina. Las mayores concentraciones de nutrientes e insecticidas se determinaron en los sitios agrícolas y de ganadería intensiva. Además, observaron que en esos sitios la composición del ensamble de macroinvertebrados era distinta que en las cuencas no disturbadas o de ganadería extensiva. En los sitios menos disturbados la dominancia correspondió al anfípodo *H. curvispina* mientras que en los disturbados Gastropoda, Zygoptera e Hirudinea fueron los taxones mejor representados. Estos estudios muestran que el efecto de un tóxico sobre los grupos más sensibles causa el incremento de los organismos menos sensibles.

Las referencias bibliográficas sobre la concentración de nutrientes indican que la agricultura con intensiva aplicación de fertilizantes, como se realiza en Europa y Estados Unidos, produce un aumento de la concentración de nitratos en los ecosistemas acuáticos. Meybeck (1998) observó que, en cuerpos de agua en áreas de agricultura intensiva, las concentraciones de nitratos aumentan en un orden de magnitud (6 mg N/l) respecto a aquellos cuerpos de agua que drenan cuencas cubiertas con bosque. Sin embargo, no registraron diferencias significativas en las concentraciones de fósforo reactivo soluble (PRS) para cuencas con distintos usos del suelo. Un estudio realizado en arroyos del Cerrado brasileño informó que los sitios con agricultura en sus cuencas presentaron mayor concentración de nutrientes, morfología de canal reducido, velocidades más altas y menor biomasa microbiana en comparación con los arroyos menos disturbados (Gücker *et al.*, 2009).

En nuestra región, Mugni (2009) y Mugni *et al.* (2013a) observaron que arroyos con distinto uso del suelo en su cuenca mostraron diferencias significativas en las concentraciones de nutrientes, siendo mayores en arroyos con uso agrícola que en cuencas con ganadería extensiva y en una reserva. Mugni *et al.* (2013a) estudió la concentración de nutrientes en el agua de escorrentía superficial de una parcela con agricultura durante 3 años consecutivos con distintos cultivos. Las mayores concentraciones se determinaron cuando el cultivo (maíz) fue fertilizado con un

fertilizante foliar líquido. Asimismo, las concentraciones en el agua de escorrentía superficial, en la primer lluvia con posterioridad a la aplicación, resultó mayor que la de otros eventos de escorrentía. Los resultados disponibles sugieren que el uso del suelo en la cuenca influye en las concentraciones de nutrientes y aumenta en los arroyos adyacentes a cultivos fertilizados (Mugni *et al.*, 2013a).

Mantener una franja de atenuación entre el cultivo y los arroyos puede representar una estrategia de manejo tendiente a mitigar el impacto de los agroquímicos reteniendo el aporte de agrotóxicos, fertilizantes, sedimentos y otros contaminantes de los cultivos a los cuerpos de agua en áreas agrícolas (Jones *et al.*, 2001; Stone *et al.*, 2005; Rasmussen *et al.*, 2011b; Bunzel *et al.*, 2014). En Brasil y Paraguay existen regulaciones que exigen a los productores mantener franjas de atenuación. En Paraguay, la Ley N° 3742/09 del Ministerio de Agricultura requiere una zona protegida de 100 m alrededor de todos los cuerpos de agua. En Brasil, se aprobó un nuevo código forestal en 2012 (Ley N° 12.651/12) que establece que el ancho de la franja de atenuación de la ribera debe variar según el uso del suelo adyacente al cuerpo de agua, el ancho del arroyo y el tamaño de la propiedad rural. En contraposición, Argentina no posee una legislación nacional que exija una franja de atenuación adyacente a los cuerpos de agua. Al mismo tiempo, en regiones con producción intensiva de soja se siembra hasta las orillas sin dejar zonas de amortiguación. Sin embargo, algunas provincias argentinas prohíben la aplicación de agrotóxicos a una distancia específica de los cuerpos de agua superficiales: Chaco Ley 7032 - DR 1567/13; Formosa Ley 1163 - DR 109/02; Río Negro Ley 2175 - DR 769/94 (FARN, 2015).

OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo de tesis es estudiar el impacto de la práctica agrícola sobre los ensambles de macroinvertebrados acuáticos de cuencas rurales, poniendo especial énfasis en el efecto producido por los agroquímicos. Para llevar a cabo dicho objetivo se evaluará la sensibilidad de una especie local (*Hyalella curvispina*) a distintos agrotóxicos mediante bioensayos en laboratorio y se compararán los ensambles de invertebrados, las características físicas y químicas del agua, las concentraciones de agrotóxicos en sedimentos y la calidad del hábitat en arroyos que atraviesan zonas con uso intensivo del suelo y arroyos de características similares, en cuyas cuencas no se realiza agricultura intensiva y/o posean franjas de atenuación cubiertas por vegetación.

Objetivos específicos:

- Determinar la concentración letal (LC₅₀) de los agrotóxicos más utilizados (cipermetrina, lambda-cialotrina, endosulfán, clorpirifos) para el anfípodo *Hyalella curvispina* en ensayos de laboratorio con agua y sedimento.
- Comparar la riqueza taxonómica y densidad de macroinvertebrados acuáticos asociados a la interfaz agua - sedimento en arroyos con uso contrastante del suelo en sus cuencas.
- Comparar la concentración de nutrientes en arroyos con distinto uso del suelo en su cuenca.
- Proveer información respecto a la efectividad de las medidas paliativas (franjas de atenuación) para minimizar el impacto de los agroquímicos sobre los ensambles de macroinvertebrados.
- Comparar las Unidades Tóxicas (UT) de los arroyos con distinto uso del suelo, calculada a partir de las concentraciones letales (LC₅₀) y los niveles de agrotóxicos determinados en los sedimentos de los arroyos estudiados.

HIPÓTESIS

El presente estudio propone como hipótesis general que la utilización intensiva de agroquímicos (agrotóxicos y fertilizantes) en la agricultura produce un impacto en los ensambles de macroinvertebrados que habitan en los cuerpos de agua adyacentes a los cultivos.

Hipótesis derivada:

Se propone como hipótesis derivadas que la resultante final de la aplicación de distintos agroquímicos causará el aumento de la concentración de nutrientes y agrotóxicos y una disminución de la biodiversidad general por la pérdida de los grupos taxonómicos más sensibles a los biocidas y proliferación de las especies más resistentes.

Asimismo, se presume que los arroyos que posean franjas de atenuación cubiertas por vegetación presentarán un impacto menor respecto a los que no posean dicha franja.

Ensayos de toxicidad

Ensayo de Toxicidad Aguda para *Hyaella curvispina* en Agua y Sedimento

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Determinar las concentraciones letales 50% (LC₅₀) de los agrotóxicos clorpirifos, endosulfán I, cipermetrina y lambda-cialotrina para *Hyaella curvispina*, tanto en agua como en sedimento.
- ❖ Comparar la sensibilidad de los diferentes grupos de edad de *Hyaella curvispina* y evaluar su viabilidad para el uso en ensayos de toxicidad.
- ❖ Comparar la sensibilidad de *Hyaella curvispina* con *Hyaella azteca* y otros invertebrados acuáticos de agua dulce.

MATERIALES Y MÉTODOS

La determinación de la dosis letal se llevó a cabo con organismos de *H. curvispina* colectados en el arroyo El Destino, ubicado en la reserva de la biosfera Parque Costero Sur, 65 km al sur de la ciudad de La Plata, Argentina (Athor, 2009). Los anfípodos fueron transportados al laboratorio y aclimatados antes de su uso para los bioensayos. Los individuos se criaron en recipientes de plástico con agua reconstituida preparada de acuerdo con las recomendaciones para *H. azteca* (USEPA, 2000). En los recipientes de cultivo se colocaron hojas de lechuga como sustrato y alimento, suplementando con alimento formulado para peces (Shulet®) cada dos días.

El sedimento se recogió del mismo sitio que los anfípodos y se homogeneizó completamente antes de tomar una alícuota para el análisis de insecticidas. En los mismos no se detectaron ninguno de los biocidas ensayados (clorpirifos, endosulfán, cipermetrina y lambda-cialotrina). El contenido de carbono orgánico fue 1,7%, y la humedad 3,6%.

Los bioensayos de toxicidad aguda en agua (96h.) y en sedimento (10 días) siguieron los métodos de Weston *et al.* (2009) y Weston & Jackson (2009), excepto el régimen de alimentación especificado levadura/cerophyll®/trucha que se cambió por alimento formulado para peces Shulet®. Los organismos de los ensayos en agua fueron alimentados en una única oportunidad a las 48 horas de comenzado el experimento y en

sedimento diariamente. Los bioensayos se mantuvieron a una temperatura de 23 ± 2 °C con fotoperíodo natural.

Las pruebas de toxicidad se realizaron usando estándares certificados de Accustandard: lambda-cialotrina (99% pureza) cipermetrina (95% pureza), clorpirifos (100% pureza) y endosulfán I (97,5% pureza). Las concentraciones utilizadas en los bioensayos de agua fueron: lambda-cialotrina 0,75; 1,5; 3; 6; 12 ng/l, cipermetrina 20, 40, 80 y 160 ng/l, clorpirifos 80, 160, 320 y 640 ng/l y endosulfán I 1000, 2000, 4000 y 8000 ng/l. Las concentraciones ensayadas en sedimento, normalizado según carbono orgánico, fueron: lambda-cialotrina 100, 200, 800 y 1600 ng/g_{co}, cipermetrina 1000, 2000 y 8000 ng/g_{co}, clorpirifos 1970, 3900 y 7900 ng/g_{co} y endosulfán I 11800, 23600, 47200 y 94500 ng/g_{co}. Las muestras de sedimento fueron homogeneizadas a mano y se almacenaron en refrigerador. La preparación del agua se realizó inmediatamente antes de comenzar los bioensayos. Cada concentración se preparó añadiendo la cantidad apropiada de tóxico disuelto en acetona. Los controles fueron realizados adicionándole la máxima concentración de acetona que se utilizó en el tratamiento de exposición, 32 µl/L en los ensayos en agua y 1,1 µl/g en sedimento. Para cada concentración de agrotóxico y control se utilizaron vasos de vidrio por triplicado, cada uno conteniendo 10 individuos de *H. curvispina*.

Para los bioensayos de agua, se colocaron en cada vaso de precipitados 80 ml de agua reconstituida con el agrotóxico y una red de nylon de 1 cm² como sustrato para que los anfípodos puedan aferrarse. Durante las primeras 48 horas se mantuvieron sin alimentación, ni cambio de agua (protocolo estándar en las pruebas agudas de 96 horas – USEPA 2002). Posteriormente, se añadió 1 ml de alimento formulado para peces (Shulet®) a cada vaso de precipitado y se esperó un período de seis horas para realizar el recambio del agua. Pasado ese tiempo, se retiró el 80% del agua y se reemplazó con una nueva muestra de agua reconstituida que contenía la concentración del pesticida correspondiente. Al finalizar el ensayo, 96 horas en total, se contaron los sobrevivientes y se calculó la concentración letal media (LC₅₀) mediante el análisis Probit con un intervalo de confianza del 95%.

Para comparar la sensibilidad de diferentes edades, se realizaron bioensayos en agua para dos grupos:

- (1) Organismos de 1-2 semanas de edad (individuos correspondientes a un tamaño de tamiz entre 500 y 355 μm); y
- (2) Organismos de 2-3 semanas de edad (individuos correspondientes a un tamaño de tamiz entre 710 y 500 μm).

Los organismos fueron tamizados tres días antes de iniciar los bioensayos.

El análisis utilizado para comparar la sensibilidad de las diferentes edades fue un test de “t”. Para comparar las LC_{50} de cada agrotóxico, según los diferentes grupos de edades, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y un test a posteriori de múltiples comparaciones de pares (Test Tukey). Previo al análisis se probaron los supuestos estadísticos de homogeneidad de la varianza y normalidad. En los casos en que los supuestos no se cumplieron se aplicó el método de Kruskal Wallis. Cuando se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) se procedió con la comparación de medianas para determinar diferencias por el método de comparación múltiple entre medianas (método Dunn’s).

Para los ensayos de sedimento, se añadieron 70 g de sedimento con el agrotóxico y 200 ml de agua reconstituida a cada vaso de precipitados. Para el ensayo se seleccionaron individuos de entre 355-710 μm (aproximadamente de 1 a 3 semanas de edad). Los organismos fueron tamizados cinco días antes de iniciar los bioensayos. Dos veces al día se reemplazó el 80% del agua con agua reconstituida. Se añadió diariamente 1 ml de alimento formulado para peces inmediatamente después del primer cambio de agua. Se usaron los datos de mortalidad para estimar los valores de CL_{50} mediante el análisis Probit con un intervalo de confianza del 95%. La toxicidad de los biocidas en sedimentos depende en gran medida del contenido de carbono orgánico total; con la finalidad de poder comparar resultados, se normalizaron las concentraciones por el porcentaje de carbono orgánico.

Distribuciones de Sensibilidad de Especies

Para comparar la sensibilidad de *H. curvispina* con otros taxones de invertebrados acuáticos, se calculó la distribución de sensibilidad de las especies (SSDs) para cada agrotóxico, utilizando el software “SSD Generator V1” creado por Agencia

de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 2015a). La SSDs utiliza los valores de toxicidad disponibles para diferentes especies con respecto a un químico particular para derivar una distribución de sensibilidad conjunta, a partir de la cual se puede estimar la fracción de especies afectadas por una determinada concentración tóxica (Smetanová et al., 2014). El software SSD Generator de USEPA produce la curva de la distribución de sensibilidad de las especies (SSDs) ajustando la distribución log-probit a datos de toxicidad (USEPA, 2015a). En el eje de las X se grafica la intensidad del estrés, representada en escala logarítmica y en el eje de las Y se representa la proporción de las especies afectadas.

Para calcular la curva de la distribución de sensibilidad de las especies (SSDs) para cada agrotóxico analizado se utilizaron los valores de LC_{50} obtenidos para *H. curvispina* del presente estudio, así como todos los datos de toxicidad aguda en agua (uno a cuatro días) para los invertebrados de agua dulce disponibles en la base de datos ECOTOX de USEPA (USEPA, 2015b).

Existen trabajos que informan los valores de LC_{50} para *H. curvispina* a 48h en agua (Mugni et al. 2011b, 2012, 2013b, 2015 y Solis, 2017). Estos datos no fueron combinados con los resultados del presente estudio con el objetivo de poder comparar las sensibilidades relativas de *H. curvispina* con la obtenida. Para el resto de los taxones, cuando se reportaban varias determinaciones para un mismo organismo, se combinaron en un único punto de datos utilizando la media de todos los valores de LC_{50} informados para el ingreso en la curva SSDs (USEPA, 2015a).

En la base de ECOTOX se dispone de datos sobre la toxicidad en agua para los cuatro insecticidas: 132 taxones tenían datos disponibles para clorpirifos, 69 para endosulfán, 57 para cipermetrina y 31 para lambda-cialotrina. Las curvas de distribución de sensibilidad de especies se generaron sólo para la toxicidad en agua, debido a la ausencia de datos de toxicidad en sedimentos.

RESULTADOS

Los resultados de los ensayos de toxicidad en agua y sedimentos registraron valores de LC_{50} más bajos para lambda-cialotrina, seguido de cipermetrina, clorpirifos y endosulfán I (Tabla 1.1). En los organismos de menor tamaño la LC_{50} de lambda-cialotrina en agua fue significativamente menor que de clorpirifos (Kruskal Wallis,

Dunn's p : 0,011). Los valores de LC_{50} de endosulfán en agua no se pudieron calcular en la clase de edad más joven, debido a la alta variabilidad en la mortalidad de las replicas y los controles. Sin embargo, en los organismos más grandes los valores de LC_{50} del endosulfán en agua resultó ser significativamente mayor que la determinada para el resto de los agrotóxicos (ANOVA, Tukey $p < 0,001$). Las diferencias aparentes entre los organismos de distintas edades en los ensayos con piretroides en agua no fueron significativas, debido probablemente a la variabilidad entre las réplicas. La supervivencia media de los controles en agua con organismos entre 500-710 μm fue de 98% y 90% en los individuos más pequeños (entre 355-500 μm). Los controles de los ensayos en sedimento tuvieron una supervivencia media de 93%.

Tabla 1.1 Valores de LC_{50} para *H. curvispina* e intervalos de confianza 95%, para los agrotóxicos lambda-cialotrina, cipermetrina, clorpirifos y endosulfán I, en agua y sedimento (co: normalizado según carbono orgánico).

Tamaño (edad)	LC_{50} Agua (ng/L)		LC_{50} Sedimento (ng/g_{co})
	355-500 μm (1-2 semanas)	500-710 μm (2-3 semanas)	355-710 μm (1-3 semanas)
λ -cialotrina	4,1 (3,2 - 5,1)	13,5 (9,8 - 26,5)	256 (197 - 334)
Cipermetrina	34,5 (25,7 - 42,1)	71,8 (61,6 - 83,8)	2073 (1644 - 2758)
Clorpirifos	138 (119 - 160)	142 (112 - 170)	3101 (2327 - 3674)
Endosulfan I	-	3264 (2784 - 3831)	33342 (25185 - 40424)

La figura 1.1 muestra la curva de distribución de sensibilidad de especies (SSDs) para clorpirifos, en la cual se observa que *H. curvispina* es más sensible que el 94% de las especies. Los organismos más sensibles incluyen a *H. azteca* (97%), los efemerópteros *Deleatidium sp.* (99%) y *Procloeon sp.* (97%), los cladóceros *Daphnia ambigua* (100%) y *Ceriodaphnia dubia* (97%) y el odonato *Pseudagrion sp.* (96%). Algunos de los taxones que poseen una baja sensibilidad al clorpirifos son el platelminto *Dugesia japonica* (9%) y los gasterópodos *Pomacea canaliculata* (4%) y *Lanistes carinatus* (3%).

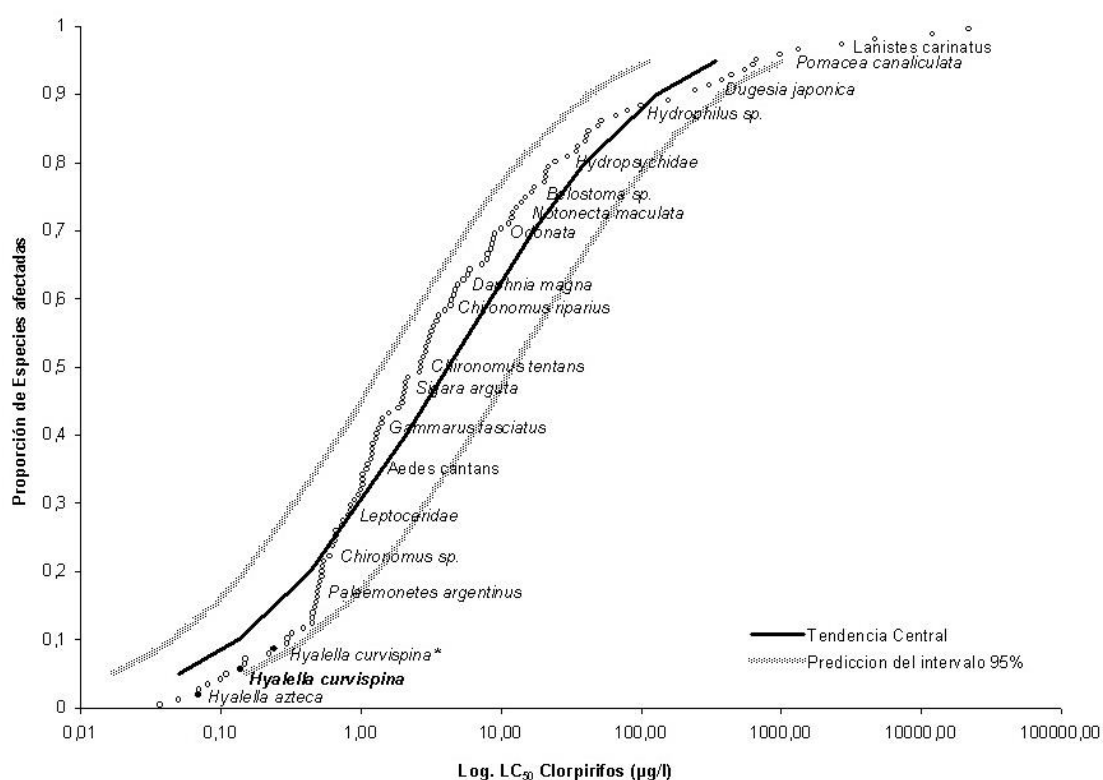


Figura 1.1 Sensibilidad de *Hyalella curvispina* comparada con la de otros macroinvertebrados de agua dulce para clorpirifos. *Hyalella curvispina** Mugni *et al.*, 2012 y Solis, 2017. (Ver Anexo Tabla A1 para los valores de LC₅₀ y valores de sensibilidad relativa para cada taxón).

La curva de SSDs para endosulfán indica que *H. curvispina* es más sensible que el 79% de las especies (Figura 1.2). En el presente estudio sólo se utilizó el isómero endosulfán I, que es más tóxico que la mezcla típica de isómeros de endosulfán (Wan *et al.*, 2005), que es usada en 56% de los otros resultados reportados. Dentro de las 15 especies más sensibles que *H. curvispina*, todos son crustáceos, excepto por dos efemerópteros (*Atalophlebia australis* y *Jappa kutera*) y un tricóptero (*Cheumatopsyche sp.*). Entre los organismos menos sensibles se encontraron el oligoqueto *Tubifex tubifex* y los gasterópodos *Physella acuta*, *Indoplanorbis exustus* y *Melanopsis dufouri*.

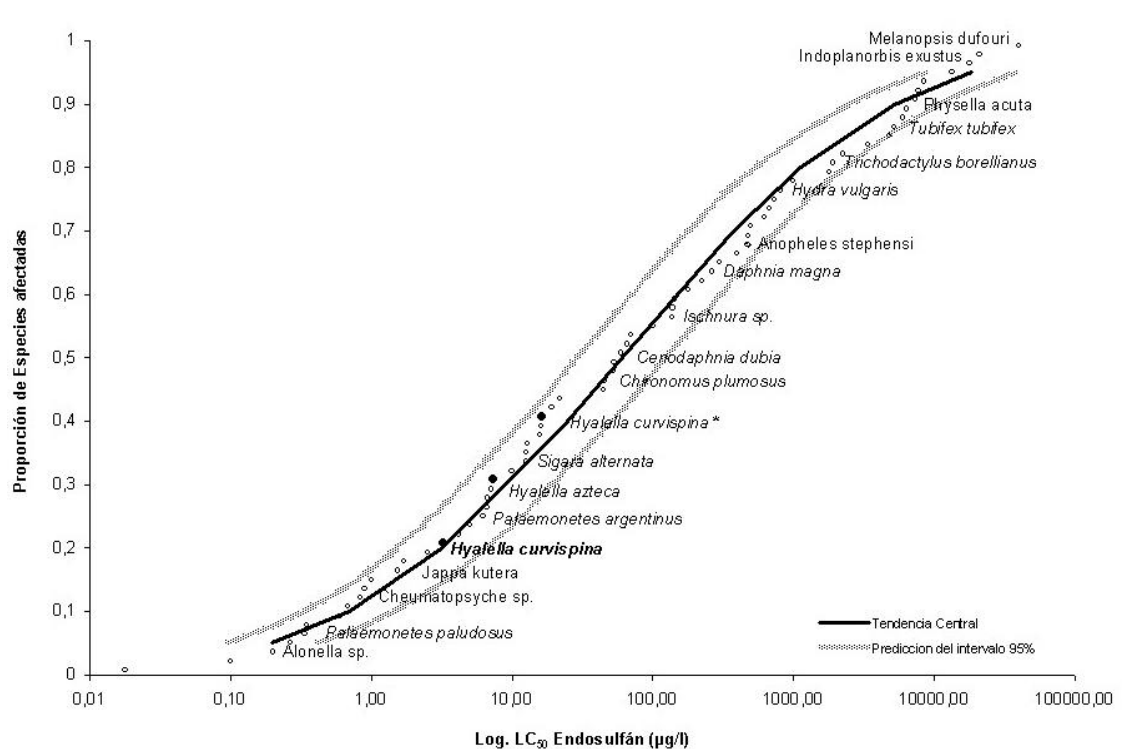


Figura 1.2 Sensibilidad de *Hyalella curvispina* comparada con la de otros macroinvertebrados de agua dulce para endosulfán. *Hyalella curvispina** Mugni *et al.*, 2012 y 2015. (Ver Anexo Tabla A2 para los valores de CL_{50} y valores de sensibilidad relativa para cada taxón).

La curva de SSDs para cipermetrina indica que *H. curvispina* es más sensible que el 91% de las especies (Figura 1.3). Los valores de LC_{50} de cipermetrina de *H. azteca* no se encontraron en la base de datos ECOTOX, por lo cual no se realizó una comparación. Los taxones que fueron más sensibles que *H. curvispina* incluyen a los crustáceos *Palaemonetes argentinus*, *Trichodactylus borellianus*, *Macrobrachium rosenbergii* y *Diaptomus forbesi* y, el chironómido *Tanytarsus sp.* Dentro de los menos sensibles se ubican los gasterópodos *Lymnaea acuminata* y *Melanoides tuberculata* y el bivalvo *Lamellidens marginalis*.

Para lambda-cialotrina, *H. curvispina* resultó ser el más sensible (98%) de los 31 taxones informados en la literatura (Figura 1.4). El presente estudio, según la bibliografía consultada, representaría el primer registro de la LC_{50} de lambda-cialotrina para *H. curvispina*.

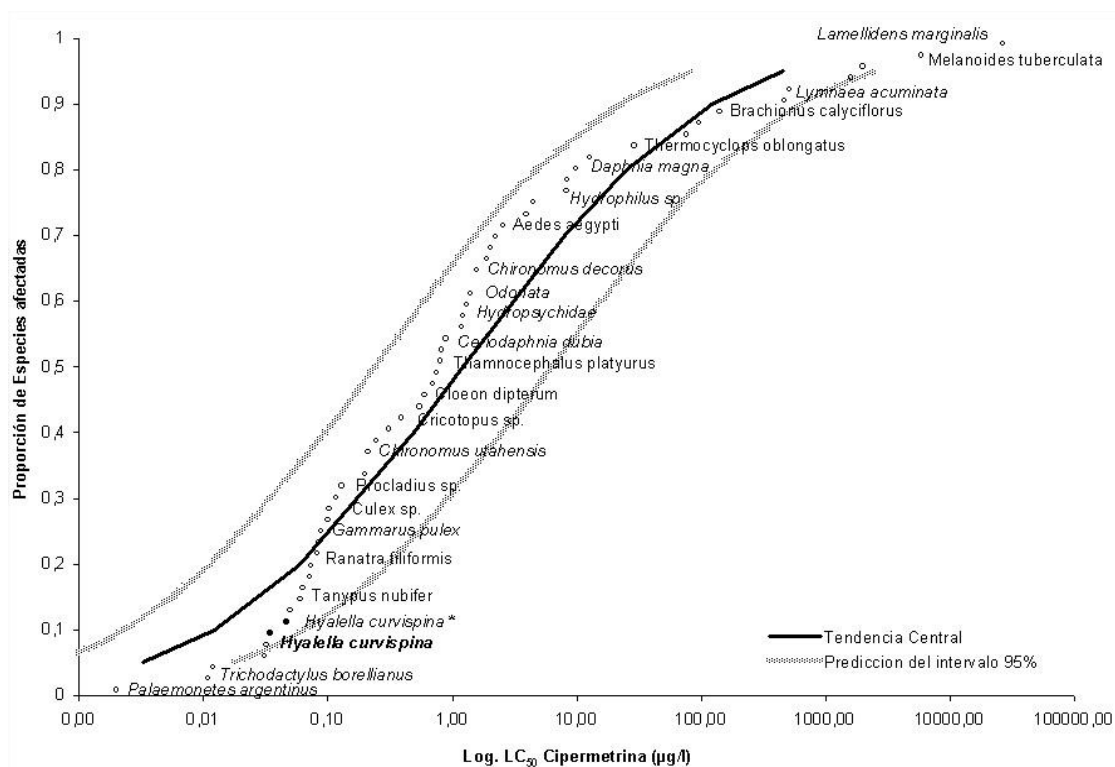


Figura 1.3 Sensibilidad de *Hyalella curvispina* comparada con la de otros macroinvertebrados de agua dulce para cipermetrina. *Hyalella curvispina** Mugni *et al.*, 2011b, 2012 y 2013b. (Ver Anexo Tabla A3 para los valores de LC₅₀ y valores de sensibilidad relativa para cada taxón).

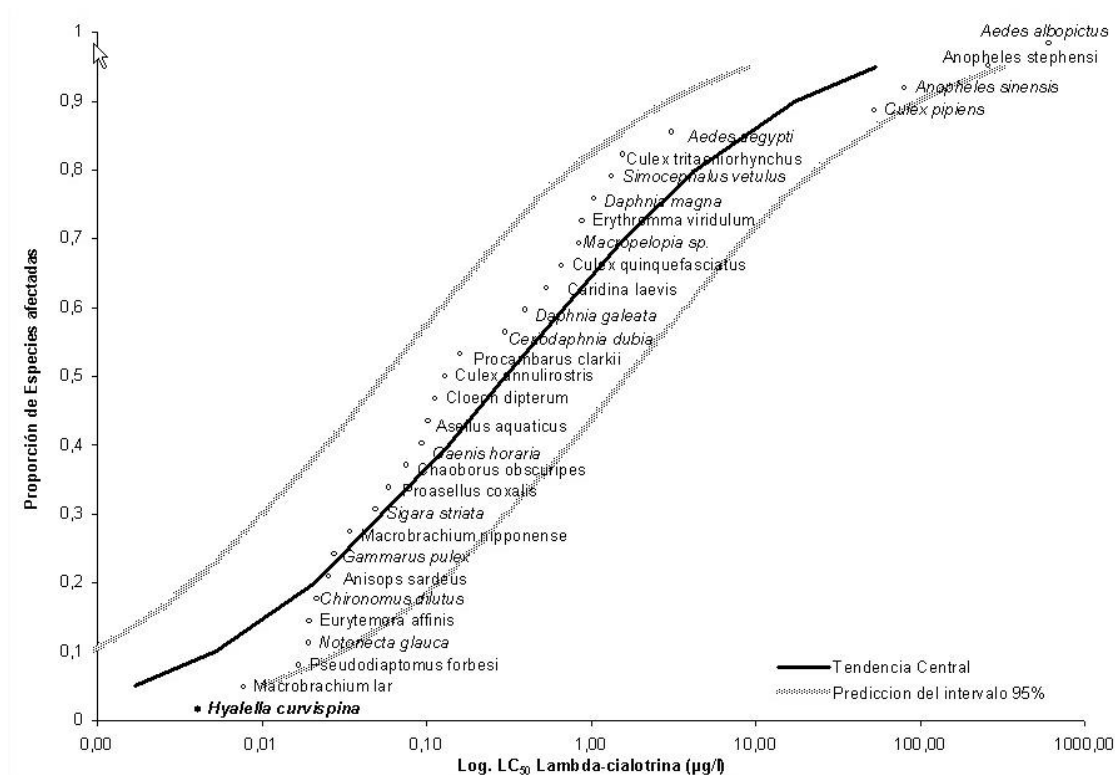


Figura 1.4 Sensibilidad de *Hyalella curvispina* comparada con la de otros macroinvertebrados de agua dulce para Lambda-cialotrina. (Ver Anexo Tabla A4 para los valores de LC₅₀ y valores de sensibilidad relativa para cada taxón).

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio indican que para los agrotóxicos clorpirifos y endosulfán la sensibilidad de *H. curvispina* es similar a la de *H. azteca* y que ambos organismos son más sensibles que la mayoría de los taxones de invertebrados de agua dulce. Asimismo, lo observado en este estudio concuerda con los datos previos de la sensibilidad de *H. curvispina*, aunque hubo algunas diferencias en la metodología empleada (Mugni *et al.* 2011b, 2012, 2013b, 2015 y Solis, 2017). Los trabajos previos utilizaron organismos adultos, más grandes (5-10 mm de longitud), por lo cual se espera que sean menos sensibles que los organismos más jóvenes utilizados en este estudio (aproximadamente 1-2 mm de longitud). Además, la duración de los ensayos anteriores fue de 48h mientras que en estos se mantuvieron 96h, lo cual se presume que bioensayos con una duración más corta resulten en mayores valores de LC_{50} . Para el agrotóxico endosulfán, los valores de LC_{50} de *H. curvispina* no fueron verdaderamente comparables debido a que se ensayaron diferentes isómeros; Mugni *et al.* (2012, 2015) utilizaron la mezcla de isómeros de endosulfán (I y II) mientras que en el presente trabajo se ensayó el isómero más tóxico, endosulfán I. No se encontraron otros estudios que determinen la LC_{50} de lambda-cialotrina en *H. curvispina*. Por otra parte, este anfípodo resultó ser el organismo más sensible a lambda-cialotrina con respecto a los invertebrados informados en la bibliografía.

Las curvas de sensibilidad calculada para los distintos agrotóxicos son consistentes con trabajos realizados a campo donde se analizó la composición del ensamble de invertebrados acuáticos relacionados con el efecto producido por los biocidas. Los grupos considerados más tolerantes fueron Hirudinea, Gastropoda y Oligochaeta; mientras que los más sensibles Amphipoda, Cladocera, Trichoptera y Ephemeroptera (Wogram & Liess, 2001; Neumann & Dudgeon, 2002; Liess & Von der Ohe, 2005; Solis *et al.*, 2016).

Existen algunos trabajos que informan concentraciones ambientales de agrotóxicos para nuestra región. Mugni *et al.* (2011a) registraron una alta concentración de endosulfán (38 $\mu\text{g/l}$) en coincidencia con la primera lluvia después de la aplicación en un arroyo de primer orden que atraviesa un campo cultivado en La Plata. Jergentz *et al.* (2005) detectaron concentraciones de 0,45 $\mu\text{g/l}$ de clorpirifos y 0,71 $\mu\text{g/l}$ de cipermetrina en un arroyo que atraviesa parcelas cultivadas con soja en Arrecifes,

Argentina. Asimismo, Marino & Ronco (2005) reportaron concentraciones entre 0,4 – 10,8 µg/l de clorpirifos y 0,2 – 3,6 µg/l de cipermetrina en arroyos pampeanos de zonas intensamente cultivadas de Pergamino. Comparando las concentraciones máximas reportada (endosulfán: 38 µg/l; clorpirifos: 10,8 µg/l y cipermetrina: 0,71 µg/l) con la LC₅₀ estimada de *H. curvispina* en el presente trabajo (endosulfán: 3,26 µg/l; clorpirifos: 0,138 µg/l y cipermetrina: 0,034 µg/l) se puede observar que los valores detectados en campo resultaron ser un orden de magnitud mayor, sugiriendo un importante riesgo para la biota.

En la bibliografía consultada sobre bioensayo en sedimento no se reportaron valores de LC₅₀ de *H. curvispina*. No obstante, los valores de LC₅₀ de *H. azteca* en sedimento han sido informados para los cuatro agrotóxicos y los resultados se corresponden bien con los determinados en *H. curvispina* en el presente estudio. Los valores de LC₅₀ en sedimento a diez días en *H. curvispina* fueron 3101, 256 y 33342 ng/g_{OC} de clorpirifos, lambda-cialotrina y endosulfán I respectivamente; mientras que los mismos en *H. azteca* fueron 4160, 450 y 51700 ng/g_{OC} (You *et al.*, 2004a; Weston *et al.*, 2013). Sin embargo, el valor de LC₅₀ de cipermetrina en *H. curvispina* determinada en la presenta tesis resultó un orden de magnitud mayor (2073 ng/g_{OC}) al reportado en *H. azteca* (380 ng/g_{OC}) por Weston *et al.* (2013).

La recomendación de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 2000) para los bioensayos de *H. azteca* es el uso de individuos recién nacidos, de 7 a 14 días de edad. Sin embargo, en el presente trabajo se observó que utilizar organismos tan jóvenes de *H. curvispina* no resultó práctico. Si bien el grupo de edad más pequeño de *H. curvispina* fue más sensible a los piretroides, la utilización de individuos de este tamaño resultó problemática en los ensayos de agua debido a la variabilidad en la supervivencia de los controles y en los bioensayos de sedimento, resultó sumamente difícil encontrar a los organismos al finalizar el experimento.

Este estudio añade información sobre la sensibilidad a los biocidas de una importante especie de anfípodos de América del Sur e indica que su sensibilidad es muy similar a una especie estrechamente relacionada de América del Norte. Una crítica repetida es evaluar el riesgo ecológico en los sistemas acuáticos utilizando los criterios de calidad de agua que se realizan sobre la base de especies de Europa, Estados Unidos y Canadá. Por este motivo, es importante realizar estudios sobre la fauna local para

determinar si el uso de datos de sensibilidad de las especies del hemisferio norte es adecuadamente protector.

Hyaella curvispina es un organismo que alcanza altas densidades en aguas poco profundas y, como se observa en el presente estudio, se ubica entre las especies más sensibles a los agrotóxicos comúnmente utilizados. Por lo tanto, se propone como especie indicadora para la evaluación regional del riesgo ambiental.

Estudios de campo

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

Los muestreos se realizaron durante el período de crecimiento de la soja, correspondiente a los meses de noviembre a abril en áreas agrícolas de Argentina, Paraguay y Brasil (Fig.2.1).

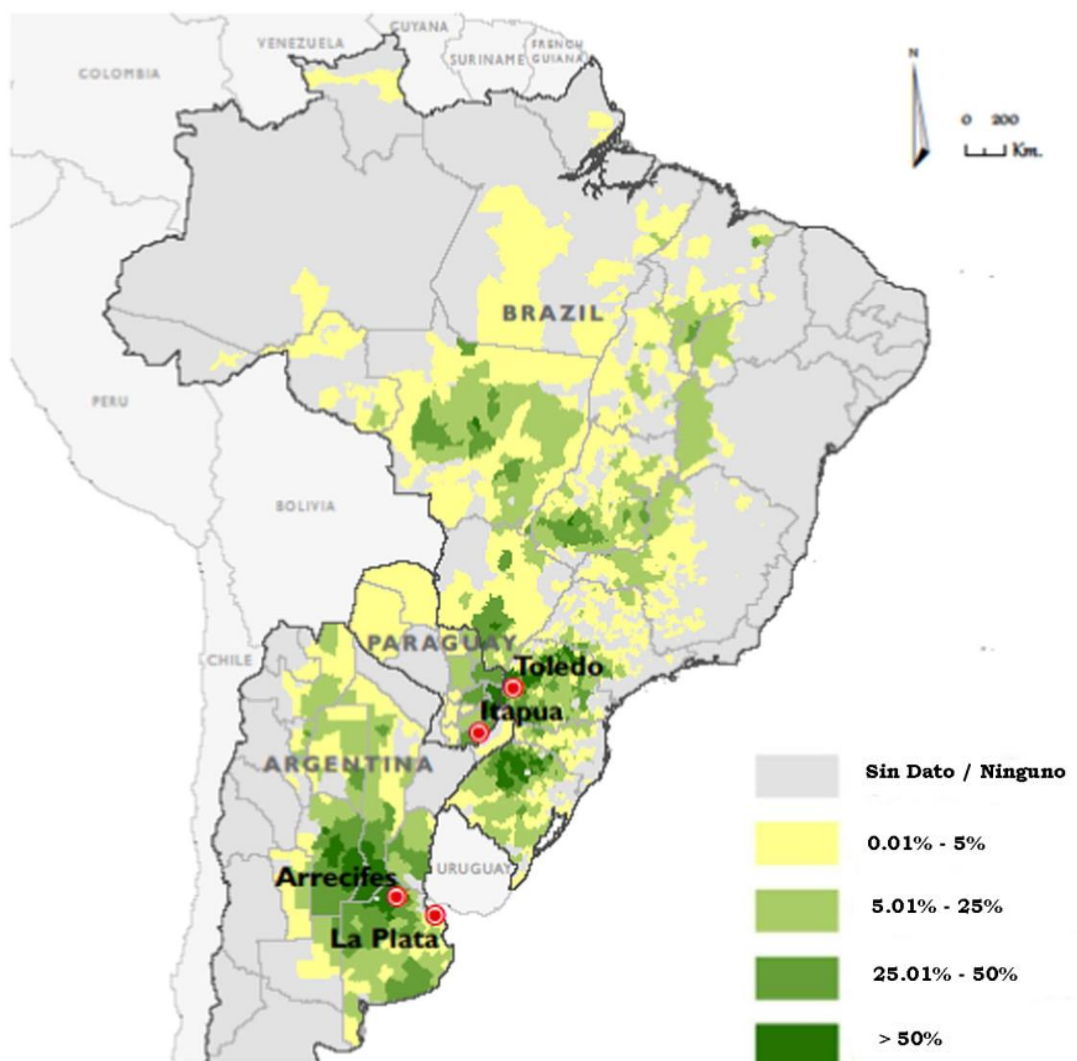


Figura 2.1. Área de estudio e intensidad de la producción de soja como porcentaje del uso del suelo por provincia/departamento en Argentina (La Plata y Arrecifes), Brasil (Toledo) y Paraguay (Itapúa).

En Argentina se llevó a cabo el estudio durante un período de tres años (noviembre 2011-febrero 2014), monitoreando 23 sitios en arroyos de primer y segundo orden, ubicados en dos regiones de la Pampa argentina, incluyendo una región de

producción intensiva de soja, en Arrecifes, y una región mixta con agricultura y ganadería extensiva, en La Plata (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Ubicación y características de cada arroyo en Argentina (Arrecifes- La Plata).

Argentina	Abreviatura	Coordenada (S)	Coordenada (W)	Uso del suelo	Franja de atenuación (m)
Arrecifes					
3 Horqueta	3HQ	34° 02' 52.0" S	59° 56' 41.1" W	Soja	15
Cañete	CA	34° 01' 52.6" S	60° 08' 04.9" W	Soja + Maiz	10
Contador 1	CO1	34° 07' 27.6" S	60° 03' 32.0" W	Soja	2
Contador 2	CO2	34° 09' 15.9" S	60° 04' 44.1" W	Soja	20
Gomez	GO	34° 07' 39.3" S	59° 54' 01.5" W	Soja	5
Río Saladito Grande	HB	34° 18' 15.9" S	60° 19' 58.5" W	Soja	15
Helves	HEL	34° 02' 48.3" S	60° 01' 8.98" W	Soja	2
Horqueta 0	H0	34° 08' 31.0" S	59° 50' 31.4" W	Soja	8
Horqueta 2	H2	34° 10' 19.6" S	59° 50' 42.6" W	Soja	10
Horqueta 5	H5	34° 07' 33.8" S	59° 50' 14.2" W	Soja + Maiz	5
Las Animas	AN	34° 06' 47.5" S	60° 12' 24.1" W	Soja	5
Los Ingleses	ING	33° 59' 07.4" S	60° 12' 07.0" W	Soja	>100
Luna 2	A2	34° 10' 43.2" S	59° 59' 22.9" W	Soja	10
Luna 3	A3	34° 10' 57.6" S	59° 58' 54.4" W	Soja	30
Luna 4	A4	34° 11' 52.5" S	60° 01' 32.0" W	Soja + Maiz	40
Maguire	MG	33° 58' 00.7" S	60° 16' 25.1" W	Soja + Maiz	5
Salto2	S2	34° 11' 08.5" S	60° 14' 03.5" W	Soja + Maiz	20
La Plata					
Remes	Re	35° 01' 31.8" S	57° 59' 38.5" W	Soja	1
Poblet	Po	35° 02' 02.4" S	57° 56' 33.3" W	Soja + Ganadería	30
Arregui	Ar	35° 07' 23.5" S	57° 41' 14.9" W	Ganadería	50
Ignacio Correa	IC	35° 01' 24.9" S	57° 51' 26.4" W	Ganadería	>100
Cajaravilla	Caj	35° 02' 26.4" S	57° 48' 54.7" W	Ganadería	>100
Juan Blanco	JB	35° 08' 29.9" S	57° 26' 23.0" W	Reserva	>100

En la región de Arrecifes se muestrearon 17 sitios todos afluentes del río Arrecife, ubicados en el noroeste de la Provincia de Buenos Aires, zona comprendida entre Pergamino, Capitán Sarmiento y Salto (Figura 2.2). Esta zona es considerada núcleo de la producción agrícola de la región pampeana, donde el suelo se destina principalmente a los cultivos de soja, maíz y trigo.

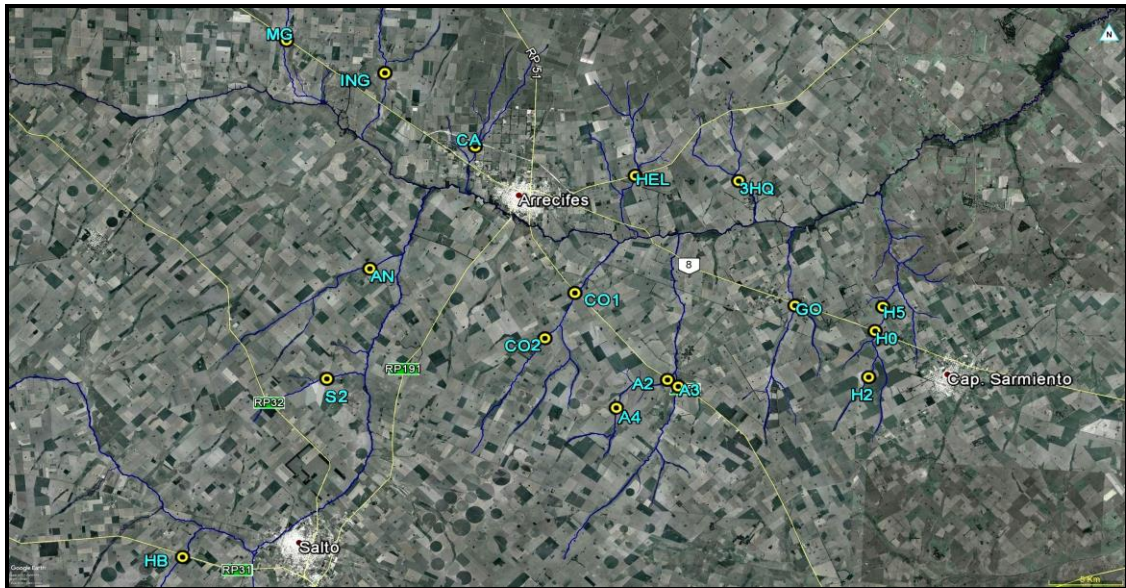


Figura 2.2. Localización de los sitios de muestreo de Arrecifes en Argentina, en una imagen satelital. (MG: Maguire, ING: Los Ingleses, CA: Cañete, HEL: Helves, 3HQ: 3Horqueta, AN: Las Animas, S2: Salto 2, HB: Río Saladito Grande, CO1: Contador 1, CO2: Contador 2, A2: Luna 2, A3: Luna 3, A4: Luna 4, GO: Gomez, H0: Horqueta 0, H2: Horqueta 2, H5: Horqueta 5).

En la región de La Plata se muestrearon seis sitios (Figura 2.3), cuatro sobre la cuenca del arroyo El Pescado (Remes (Re), Poblet (Po), Ignacio Correa (IC), Cajaravilla (Caj) y dos sobre cuencas separadas (Arregui (Ar) y Juan Blanco (JB)). El principal uso del suelo fue la ganadería extensiva sobre pasturas naturales, con parcelas dispersas de producción de soja y otros cultivos; excepto para el sitio Remes, donde el uso del suelo es exclusivamente agrícola y Poblet con ganadería y agricultura en la cuenca superior.

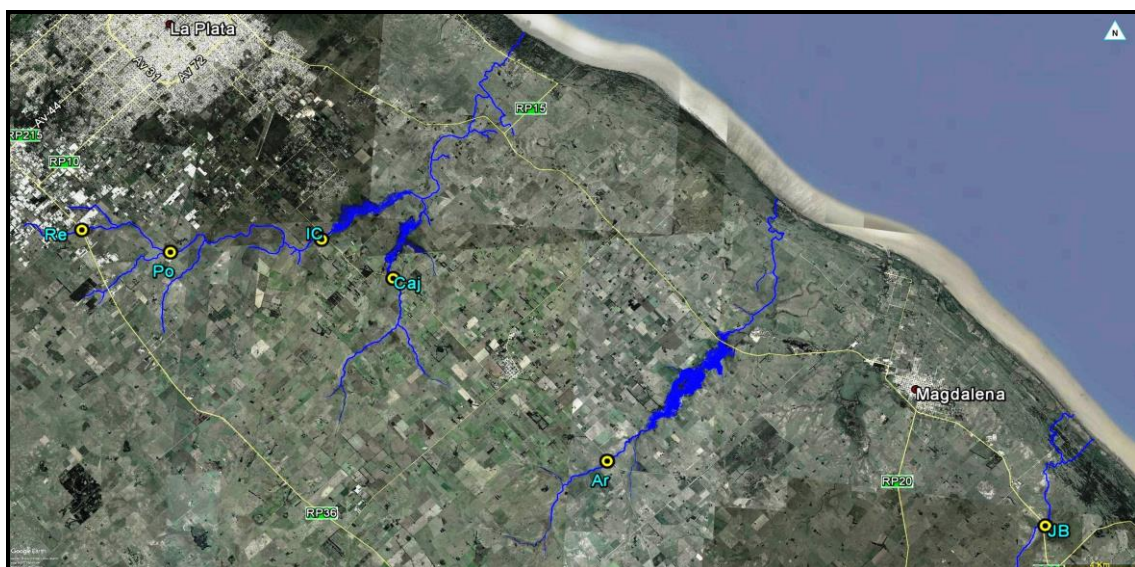


Figura 2.3. Localización de los sitios de muestreo de La Plata en Argentina, en una imagen satelital. (Re: Remes, Po: Poblet, IC: Ignacio Correa, Caj: Cajaravilla, Ar: Arregui, JB: Juan Blanco).

En Paraguay, los 17 sitios de muestreo se ubicaron sobre la cuenca del río Pirapó, departamento de Itapúa, 440 km al sureste de Asunción y a 80 km de Posadas, Argentina (Figura 2.4, Tabla 2.2). El departamento de Itapúa es el segundo productor nacional de soja, como así también de girasol, trigo, maíz y algodón. El ganado vacuno es el de mayor importancia dentro del departamento, seguido del porcino (DGEEC, 2015).

El Ministerio de Agricultura y Ganadería de Paraguay reglamentó la aplicación de productos fitosanitarios mediante la Ley N° 3742/09; y establece, a fin de evitar la contaminación de los cursos de agua, la obligatoriedad de utilizar franjas de atenuación. En los casos de pulverización aérea de los biocidas de uso agrícola, se establece una franja de protección de 200 m entre la zona de aplicación y todo asentamiento humano y cursos de agua en general. En caso de aplicación terrestre se requiere una franja de 100 m entre el área de tratamiento con productos fitosanitarios y todo asentamiento humano y curso de agua natural.

Los muestreos se desarrollaron en enero y diciembre de 2013. La posibilidad de realizar dicho muestreo surgió gracias a una gestión realizada ante el Dr. John Kochalka, jefe de la División de Invertebrados del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay. Paralelamente se logró la colaboración de la Asociación Pro Cordillera San Rafael (Pro-Cosara), una organización dedicada a la conservación de uno de los últimos restos del Bosque Atlántico en el sureste del Paraguay, que brindó alojamiento en la sede de la asociación, en la Reserva San Rafael, departamento de Itapúa. Las muestras de macroinvertebrados recolectadas fueron separadas y clasificadas in-situ hasta el nivel taxonómico de familia. Una parte de las muestras fue donada al Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay y otra traída a la Argentina para posterior confirmación con especialistas.

Tabla 2.2. Ubicación y características de cada sitio de muestreo en Paraguay.

Paraguay	Coordenada (S)	Coordenada (W)	Uso del suelo	Franja de atenuación (m)
P1	26° 42' 21.2" S	55° 31' 49.1" W	Soja + Eucaliptus	>100
P2	26° 45' 48.7" S	55° 33' 34.7" W	Soja	>100
P3	26° 49' 34.5" S	55° 31' 36.8" W	Soja + Eucaliptus	>100
P4	26° 53' 29.8" S	55° 34' 19.1" W	Soja	53
P5	26° 55' 54.1" S	55° 31' 00.8" W	Soja + yerba mate	10
P6	26° 52' 12.5" S	55° 29' 49.7" W	Soja	>100
P7	26° 37' 45.8" S	55° 39' 55.1" W	Soja + Bosque	>100
P8	26° 47' 37.0" S	55° 37' 33.4" W	Soja	40
P9	26° 47' 59.4" S	55° 35' 38.0" W	Soja	>100
P10	26° 50' 09.1" S	55° 36' 33.4" W	Soja + Maiz	30
P11	26° 50' 35.0" S	55° 36' 43.7" W	Soja	40
P12	26° 31' 16.6" S	55° 37' 04.3" W	Maiz + Soja	30
P13	26° 32' 18.1" S	55° 37' 01.7" W	Soja	35
P14	26° 26' 19.0" S	55° 34' 32.4" W	Soja	>100
P15	26° 30' 56.5" S	55° 36' 43.3" W	Soja	>100
P16	26° 28' 21.9" S	55° 34' 07.9" W	Soja + Mandioca + Eucaliptus	3
P17	26° 28' 27.4" S	55° 33' 57.3" W	Soja + maiz	5

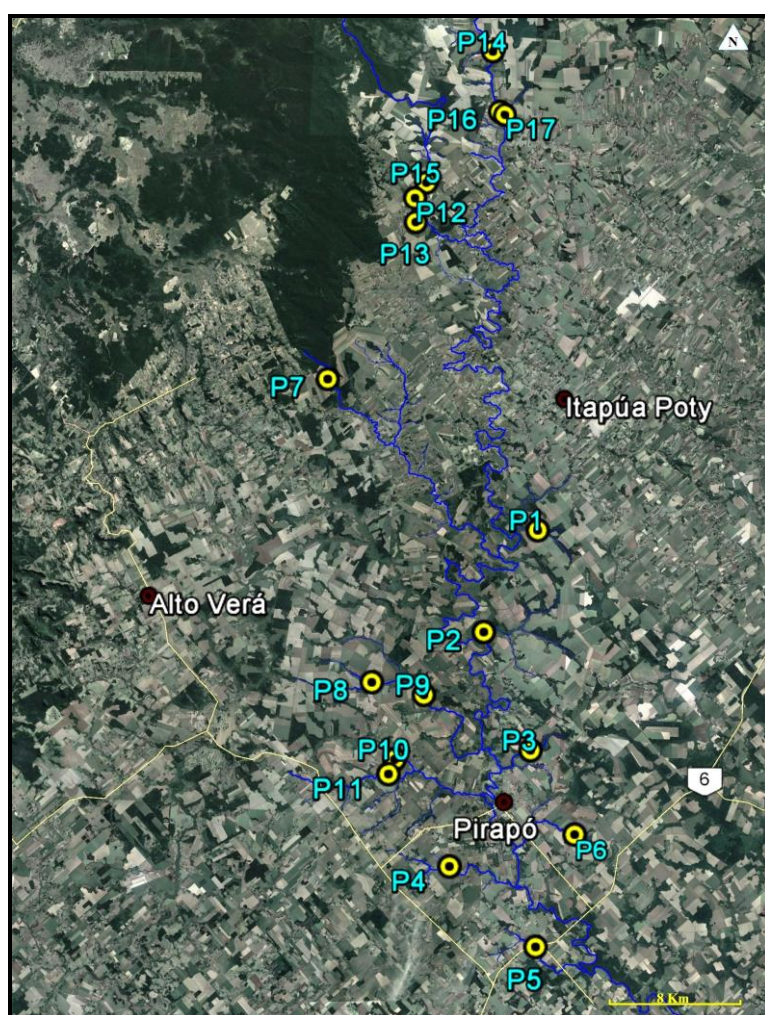


Figura 2.4. Localización de los sitios de muestreo de Itapúa, Paraguay, en una imagen satelital.

En Brasil se tomaron muestras en 18 sitios de la localidad de Toledo, estado de Paraná, a unos 170 Km al noroeste de Puerto Iguazú, Argentina (Figura 2.5, Tabla 2.3). El muestreo en Brasil fue posible gracias al apoyo del Dr. Daniel Buss, especialista en biodiversidad del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, quien mantiene un programa de monitoreo en varios estados de Brasil, que incluye el estado de Paraná. El Dr. Buss gestionó el acceso a los sitios de muestreo que él visita como parte de su programa y a las instalaciones de la universidad de Toledo. Para la clasificación taxonómica se utilizaron claves y material bibliográfico referido a la fauna regional y fue supervisada por Michelli Ferronato, docente e investigadora de la Universidad Católica de Paraná, que participa del proyecto dirigido por el Dr. Buss.

La ciudad de Toledo posee una economía agroindustrial; ocupa el primer lugar en el PIB agropecuario de la región sur de Brasil y el 11° lugar en el país. El ganado porcino y los criaderos de pollo son los de mayor importancia dentro del departamento. Al igual que Paraguay, Brasil posee la obligatoriedad de mantener franjas de atenuación. En 2012 se aprobó un nuevo código forestal (Ley N° 12.651 / 12) en el que se establece que los requisitos de la zona de amortiguación de ribera varían con el ancho del cuerpo de agua, la topografía del ambiente, la actividad de la cuenca, entre otras características. La legislación determina una franja de 30 m en arroyos con un ancho de 10 m o menos y una zona marginal de 50 m en arroyos con un ancho de 10 a 50 m

Tabla 2.3. Ubicación y características de cada sitio en Brasil.

Brasil	Coordenada (S)	Coordenada (W)	Uso del suelo	Franja de atenuación (m)
B2	24° 48' 44.4" S	53° 42' 31.6" W	Soja	10
B3	24° 48' 51.4" S	53° 38' 22.2" W	Soja	>100
B7	24° 57' 31.2" S	53° 40' 53.5" W	Soja + Maíz + Pastura	18
B10	24° 56' 54.4" S	53° 41' 52.5" W	Soja + Pastura	15
B11	24° 56' 31.8" S	53° 42' 49.1" W	Soja	9
B12	24° 45' 49.1" S	53° 48' 55.7" W	Soja	40
B13	24° 44' 41.6" S	53° 51' 40.3" W	Soja + Maíz	>100
B14	24° 44' 40.8" S	53° 51' 59.3" W	Soja	30
B15	24° 45' 28.2" S	53° 52' 55.8" W	Soja + Pastura	49
B16	24° 45' 05.2" S	53° 53' 03.6" W	Soja	35
B17	24° 44' 57.4" S	53° 54' 18.2" W	Soja	58
B18	24° 47' 43.0" S	53° 54' 11.0" W	Soja	>100
B19	24° 49' 19.8" S	53° 54' 12.2" W	Soja + Pastura	90
B20	24° 49' 07.5" S	53° 50' 29.2" W	Soja + Pastura	>100
B21	24° 48' 29.6" S	53° 45' 44.8" W	Soja + Pastura	43
B22	24° 45' 48.2" S	53° 37' 54.1" W	Soja + Maíz	30
B23	24° 47' 48.0" S	53° 36' 16.8" W	Soja + Maíz	15
B24	24° 47' 57.2" S	53° 36' 01.7" W	Soja	> 100

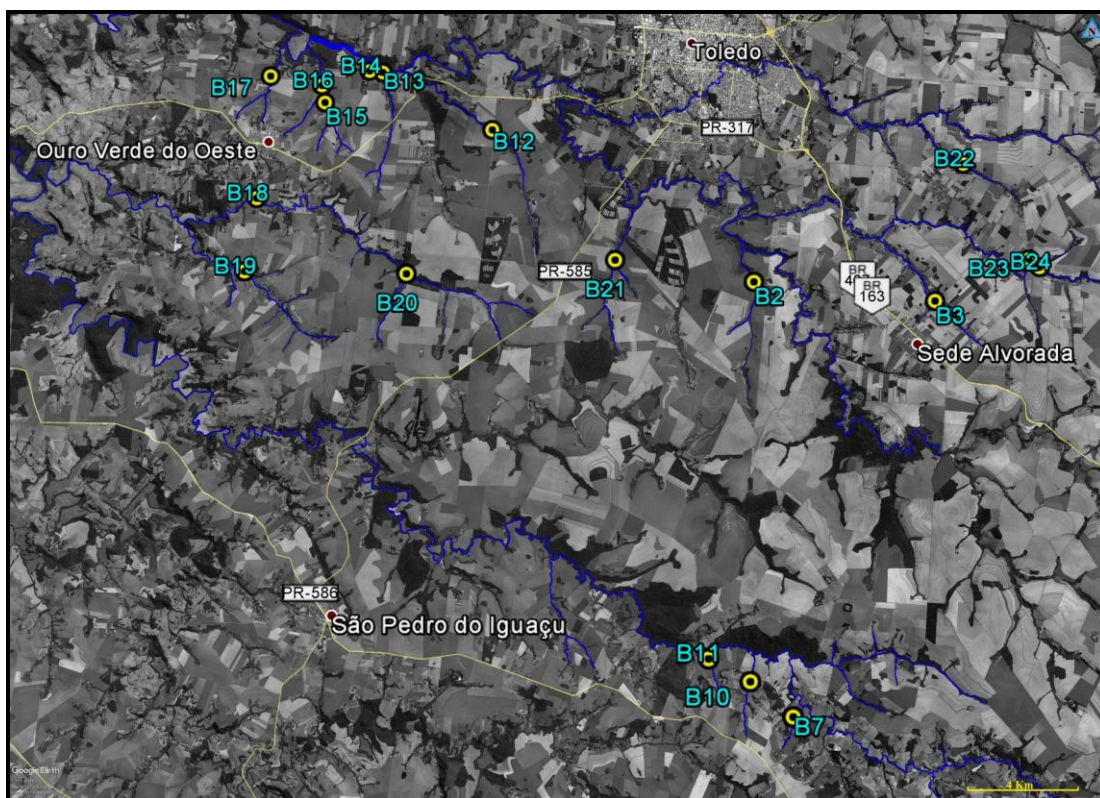


Figura 2.5 Localización de los sitios de muestreo de Toledo, Brasil, en una imagen satelital.

Datos ambientales

En cada muestreo se realizaron determinaciones in situ. El ancho y profundidad de los cauces se midieron por medio de una cinta métrica graduada. La temperatura del agua (T °C), conductividad, pH, turbidez y oxígeno disuelto (OD) se midieron con un equipo multiparámetro (modelo Yellow Springs instruments si 556). En todos los sitios se tomaron muestras de agua para determinar los sólidos suspendidos (SS) en el laboratorio, por diferencia de peso después de filtrar un volumen de agua conocido a través de filtros Whatman GF/C. Los filtros fueron muflados a 550 °C por dos horas con anterioridad a su utilización (APHA 2005).

En cada uno de los sitios se midió el ancho y la profundidad máxima del arroyo. En Arrecifes (Arg.), Brasil y Paraguay se calcularon las velocidades máximas y promedio del agua con un medidor de caudal (Global Water FP311, College Station, TX, EE. UU.); en La Plata (Arg.) no fue posible la utilización del equipo por las características propias de los arroyos. En cada sitio de muestreo se midió el ancho mínimo de la franja de atenuación y se confirmó con imágenes satelitales LANDSAT. En los sitios de Argentina, la vegetación acuática se cuantificó según la riqueza de

familias encontradas en el sitio de muestreo. Los arroyos de Brasil y Paraguay no contaban con vegetación acuática.

En la Selva Paranaense se evaluaron los componentes del sustrato, morfología del arroyo y la calidad del hábitat siguiendo el Protocolo Rápido de Bioevaluación (RBP) de la USEPA (Barbour *et al.*, 1999). Los componentes inorgánicos del sustrato se estimaron calculando la proporción relativa de los distintos tipos presentes en la sección muestreada. El esfuerzo de muestreo correspondió a la colecta manual de una muestra por metro hasta completar un trayecto de 100 m en zigzag aguas arriba para cada uno de los sitios. Utilizando un marco calibrado o cinta métrica se clasificaron las 100 muestras según su diámetro en: Lecho rocoso, Bloque (> 256 mm), Adoquín (64-256 mm), Grava (4-64 mm) y Sedimento fino (< 4) (Figura 2.6; ver Anexo Tabla B1).



Figura 2.6. Estimación de los componentes inorgánicos del sustrato según su diámetro: a) trayecto en zigzag a lo largo de la sección del arroyo, b) marco calibrado, c) colecta de la muestra y d) medición de la muestra colectada.

Los componentes orgánicos del sustrato se diferenciaron visualmente en dos grupos: Materia Orgánica Particulada Gruesa (MOPG: palos, maderas, fragmentos vegetales) y Materia Orgánica Particulada Fina (MOPF) y se cuantificaron según su abundancia relativa en el área muestreada. La heterogeneidad morfológica de cada arroyo (figura 2.7) se evaluó calculando la proporción representada por zonas de erosión, con flujo rápido y poco profundas (rápidos); áreas de transición, de flujo suave e ininterrumpido que conecta los rápidos con los pozones (correderas) y; zonas de deposición, donde el agua fluye lentamente y se encuentran a menudo en el exterior de las curvas (pozones).

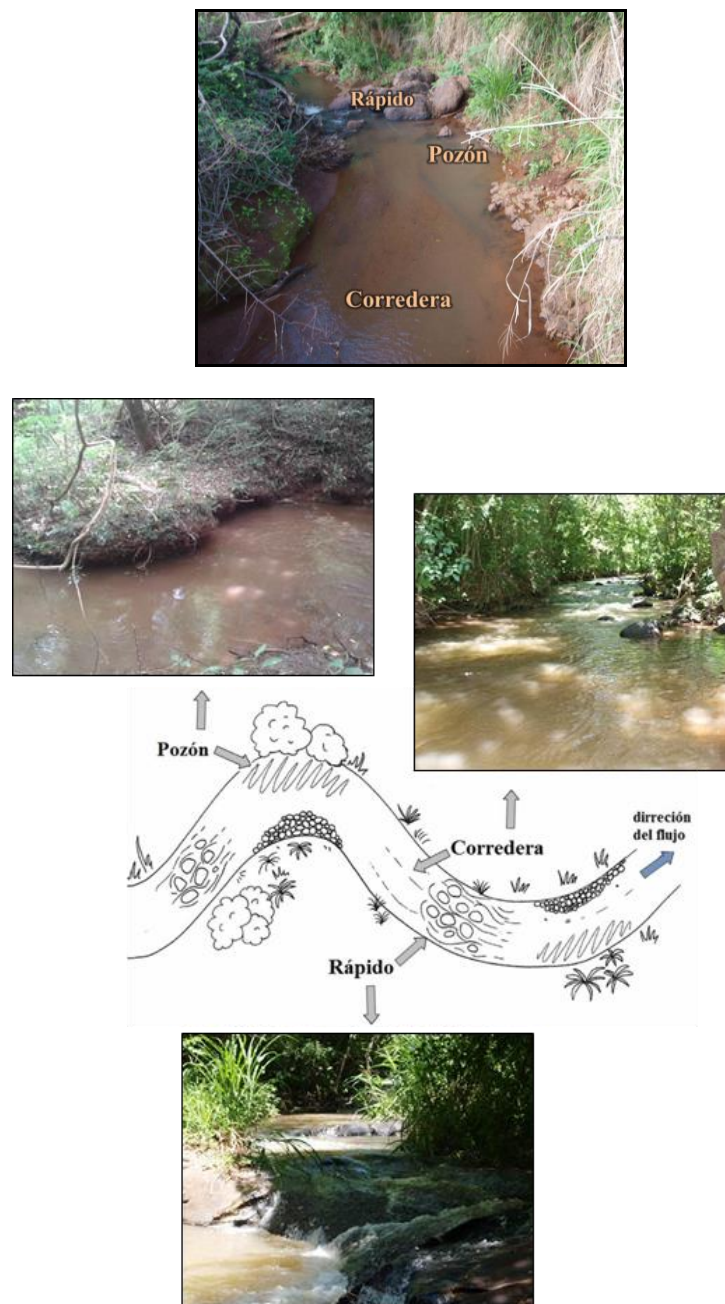


Figura 2.7. Heterogeneidad morfológica de los arroyos en pozón, corredera y rápido.

Según Barbour *et al.* (1996), la calidad del hábitat se define como la evaluación de la estructura del hábitat físico circundante que influye en la calidad del recurso hídrico y la condición de la comunidad acuática residente. Un enfoque global para determinar la estructura del hábitat en los arroyos incluye: estimación de la variedad y calidad del sustrato, morfología del canal, estructura de la orilla y vegetación ribereña. Los principales parámetros para la evaluación comprenden aquellos que caracterizan el hábitat de "microescala" (estimación de nichos), las características de "macroescala" (morfología del canal) y las características estructurales de la ribera y la orilla. El proceso de evaluación implica calificar 10 parámetros: sustrato epifaunal, variabilidad del lecho, régimen de velocidad y profundidad, depositación de sedimentos, estado del flujo del canal, alteraciones del canal, frecuencia de rápidos, estabilidad de las orillas, protección vegetal y ancho de la zona ribereña vegetada. Todos los parámetros se evalúan en una escala numérica de 0 a 20 (deficiente, marginal, subóptimo u óptimo). Las calificaciones se suman y se comparan con una condición de referencia para proporcionar una clasificación final. Las puntuaciones aumentan a medida que aumenta la calidad del hábitat. La coherencia en las descripciones de los parámetros físicos y los criterios de evaluación del hábitat fueron estandarizados acorde al formulario de calificación de hábitat de Barbour *et al.* (1999).

Análisis de Nutrientes

En cada relevamiento se tomaron muestras de agua de los arroyos, las cuales fueron llevadas en frío al laboratorio para su análisis. Las muestras se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C. La concentración de nutrientes disueltos en Argentina se midió siguiendo la metodología propuesta por APHA (1995). La concentración de fósforo reactivo soluble (PRS) se determinó mediante la reacción con molibdato-ascórbico, la de nitrito (N-NO_2^-) por diazotización, nitrato (N-NO_3^-) por reducción con hidracina seguida de diazotización y la de amonio (N-NH_4^+) por la reacción del indofenol azul (límite de detección 0,005 ppm para todos los nutrientes). En Paraguay y Brasil se determinaron los nutrientes en campo utilizando Kits: PRS (CHEMetrics C-8501, Midland, VA, USA), N-NO_3^- (LaMotte 3354-01, Chestertown, MD, USA) y N-NH_4^+ (Sera, Alemania), con un límite de detección 0,1 ppm, 1 ppm y 0,5 ppm respectivamente.

Análisis de Agrotóxicos

Los sedimentos para determinar la concentración de agrotóxicos fueron colectados de las áreas de deposición dependiendo de la profundidad, el acceso y la disponibilidad. En cada sitio se tomó una muestra compuesta de sedimento utilizando una cuchara de acero inoxidable (3-5 cucharas por muestra) y se guardó en frasco de vidrio color ámbar con tapas de Teflón. Las muestras fueron transportadas en frío al laboratorio y se mantuvieron refrigeradas hasta su extracción. Después de homogeneizar completamente cada muestra en el laboratorio, se tomó una alícuota de cada una para el análisis de carbono orgánico total (COT) mediante titulación con sulfato ferroso (USDA, 1996) y se recogió una muestra separada de cada localidad para el análisis de textura.

La extracción de los biocidas se realizó siguiendo la metodología de You *et al.* (2004b). Después de homogeneizar manualmente cada muestra se separaron aproximadamente 20 g de sedimento (peso húmedo), se añadieron 100 ng del subrogante decaclorobifenilo (DCBP), un compuesto orgánico que se utiliza para determinar el porcentaje de recuperación, y se mezclaron con 4 g de cobre y Na_2SO_4 anhidro en un vaso de precipitado enfriado con hielo. La extracción se realizó agregando 50 ml de una mezcla 50:50 de acetona y cloruro de metileno y se sonicó usando un procesador ultrasónico de alta intensidad a una amplitud de 60 (modelo VCX 500; Sonics and Materials, Newtown, CT, EE. UU.). El extracto se dejó decantar y se filtró a través de un papel de filtro Whatman n° 41 (Whatman, Maidstone, UK) que contenía aproximadamente 2 g de Na_2SO_4 anhidro. Este procedimiento se repitió dos veces. Los extractos se combinaron y concentraron a 1-2 ml aproximadamente por evaporación. A continuación se realizó un clean up mediante la extracción en fase sólida (SPE) (USEPA 2007). Todos los patrones de plaguicidas y el estándar del subrogante decachlorobifenil (DCBP) se adquirieron de Accustandard y presentaron una pureza >93% (New Haven, CT, USA). Los solventes utilizados en las extracciones y análisis fueron grado plaguicida. El cobre granular utilizado en las extracciones de muestras se purificó cubriendo con cloruro de metileno, se agitó vigorosamente y se dejó secar en la campana durante 24 h.

Durante el primer período 2011-2012 se utilizó cromatografía de gases acoplada a detección de captura de electrones (GC-ECD) para analizar los insecticidas más frecuentemente usados en Argentina en los cultivos de soja incluyendo cipermetrina, clorpirifos, lambda-cialotrina y endosulfán. A partir de 2013, se tuvo acceso a un método más avanzado para la cuantificación de los compuestos, un cromatógrafo de

gases acoplado con un espectrómetro de masas (GC-MS). Este equipo permitió detectar mayor número de organoclorados, como DDT y sus derivados, piretroides adicionales y el sinérgico piperonil butóxido (PBO). Aunque el sinérgico PBO no está presente en las formulaciones de insecticidas que se venden para su uso en la producción de soja, es posible que los productores lo mezclen con plaguicidas piretroides para aumentar su eficacia o puede provenir de otras fuentes, como el control de garrapatas en la producción de animales de granja.

Todas las determinaciones de los biocidas se llevaron a cabo en la Universidad del Sur de Illinois, USA.

Cálculo de Unidades Tóxicas

Las Unidades Tóxicas (UT) de los biocidas más utilizados en el área de estudio fueron calculadas para todas las muestras de sedimentos:

$$UT = C_i/LC_{50i}$$

Donde C_i es la concentración del biocida i en el sedimento, normalizado por la concentración de carbono orgánico total (COT), y LC_{50i} es la concentración letal 50 determinada en ensayos de toxicidad en sedimento del biocida i .

Los valores de LC_{50} en sedimento utilizados para el cálculo de las UT fueron las determinadas en el presente estudio para *H. curvispina* (ver Cap. 1 “ensayos de toxicidad”), excepto para el endosulfán sulfato, que no fue ensayada. Para calcular la UT del endosulfán sulfato, se utilizó el valor de LC_{50} de *Chironomus tentans*, y no la del anfípodo *H. azteca*, debido a que éste díptero posee mayor sensibilidad (You *et al.* 2004a). La toxicidad de los biocidas en los sedimentos depende en gran medida del contenido de carbono orgánico. Con la finalidad de poder comparar resultados, las concentraciones determinadas en las muestras de los arroyos se normalizaron dividiendo las mismas por el contenido de COT en los sedimentos. Para calcular la UT-total se sumaron los valores de UT de todos los biocidas.

Muestras de Macroinvertebrados

En la región pampeana, las muestras de macroinvertebrados bentónicos se recogieron arrastrando sobre el fondo una red de mano tipo D-net de 30 cm de diámetro y 500 μ m de abertura de malla (Figura 2.8), recorriendo cinco transectas de un metro en la primera etapa (2011-2012) y nueve transectas de un metro en la segunda etapa de

muestreo (2013-2014). Todos los organismos colectados fueron clasificados e identificados. En Paraguay y Brasil se implementó el método de muestreo conocido como “Kick-sampling”. El procedimiento consiste en apoyar la red, sujeta a un mango largo, en el fondo del arroyo en dirección aguas abajo. El material del fondo que se encuentra inmediatamente aguas arriba es removido con el pie por lo que el material es llevado dentro de la red por la corriente. Este método es más eficiente cuando el sustrato es rocoso y la velocidad del agua transporta los organismos hacia el interior de la red (Barbour *et al.*, 1999).



Figura 2.8. Red de mano tipo D-net

En Paraguay y Brasil, cada remoción del sustrato se efectuó a 0,5 m aguas arriba de la red. Debido a la alta variabilidad en el número de organismos obtenidos, el tamaño de la muestra se adaptó para asegurar un número suficiente de organismos en cada una. En enero de 2013, en Paraguay, se realizaron tres remociones del sustrato por un período de 30 segundos en cada sitio y todos los invertebrados de las muestras fueron clasificados e identificados. Para los muestreos de noviembre y diciembre de 2013, en Brasil y Paraguay respectivamente; el tamaño de la muestra fue mayor asegurando un

número suficiente de organismos y se utilizó, además, un método de submuestreo. En cada sitio se realizaron 30 remociones durante un período de 20 segundos cada una, se homogeneizó el material y se dividió en 24 cuadrillas. Los organismos de los cuadrantes seleccionados aleatoriamente se clasificaron hasta que se alcanzó un recuento total de 500 organismos por muestra ó hasta que los organismos de todos los cuadrantes se hayan clasificado. Esto se aproxima al rango superior de conteo utilizado en los programas de biomonitoreo de los Estados Unidos que involucran números fijos de organismos (Barbour & Gerritsen, 1996; Carter & Resh, 2013). Una vez iniciada la clasificación de un cuadrante se sigue hasta completarlo, aunque ya se hayan alcanzado los 500 organismos antes de terminar el cuadrante. El análisis estadístico se realizó utilizando la abundancia relativa de cada taxón.

Las muestras recolectadas se volcaron en una bandeja plástica y fueron tamizadas para eliminar el agua excedente, luego se colocaron en frascos plásticos debidamente rotuladas (especificando fecha, sitio y número de réplica) con alcohol 70% para su posterior separación, identificación y conteo (Figura 2.9).



Figura 2.9. Colecta, filtrado y almacenamiento de la muestra.

En el laboratorio, las muestras fueron nuevamente tamizadas (tamiz de 500 μ m) y colocadas en bandejas, donde los organismos fueron separados. El sustrato fue removido cuidadosamente hasta asegurarse de que no quede ningún individuo en él. Los macroinvertebrados fueron identificados bajo microscopio óptico estereoscópico (lupa) mediante el uso de las claves taxonómicas Nieser & Melo (1997), Bouchard (2004), Merritt *et al.* (2008), Domínguez & Fernández (2009), Mugnai *et al.* (2010) hasta el nivel taxonómico de familia. Lenat & Barbour (1994) sugieren que el nivel taxonómico de familia permite una adecuada caracterización de la calidad ecológica en los sistemas fluviales. Si bien para la determinación taxonómica se puso especial énfasis en lograr la

mayor precisión posible a través de la consulta con especialistas, en la mayoría de los casos no fue posible realizar determinaciones a nivel específico. Por lo tanto, se tomó en cuenta el nivel más bajo determinado de la unidad taxonómica: filo u orden, familia, género. Luego de la identificación las muestras fueron conservadas en tubos debidamente rotulados en alcohol 70% (Figura 2.10).



Figura 2.10. Materiales de laboratorio para el procesamiento de las muestras.

Análisis Estadístico

Los parámetros ambientales en los arroyos relevados de la pampa argentina fueron comparados, agrupándolos según el uso del suelo (agrícola, ganadero, reserva), mediante el análisis de la varianza de una vía (ANOVA). Previo a este análisis se probaron los supuestos estadísticos de homogeneidad de la varianza (Test de Levene) y normalidad (Test de Kolmogorov Smirnov). En caso de cumplirse los supuestos y observarse diferencias significativas se realizó un test a posteriori de múltiples comparaciones de pares (Test de Tukey). En los análisis que los supuestos no se cumplieron se aplicó el método de Kruskal Wallis (ANOVA no paramétrico por rangos). Cuando se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$), para determinar entre que grupos existían diferencias, se realizó un test a posteriori de comparación múltiple de medianas (método Dunn's).

El análisis utilizado para comparar los parámetros ambientales y los índices de diversidad entre los arroyos muestreados de Paraguay y Brasil fue un test de "t". Previo

al análisis se verificó la normalidad de los datos mediante el Test de Kolmogorov Smirnov. En los casos donde los datos no respondieron a una distribución normal se aplicó Mann-Whitney. Las concentraciones de agrotóxicos detectadas en ambas regiones, según la fecha de muestreo, fueron comparadas mediante el análisis ANOVA no paramétrico por rangos (Kruskal Wallis) debido a que los supuestos de homogeneidad y normalidad no se cumplieron. Para determinar entre que grupos existían diferencias se realizó el test a posteriori Dunn's.

Las correlaciones entre las variables ambientales, las métricas del ensamble de macroinvertebrados, las concentraciones de agrotóxicos y las unidades tóxicas, fueron analizadas mediante el coeficiente de correlación de Spearman, asumiendo en todos los casos un nivel de significancia $p < 0,05$.

Todos los análisis previamente mencionados se realizaron utilizando el programa SigmaStat 3.5.

Las métricas del ensamble de macroinvertebrados (riqueza, abundancias e índices de diversidad y dominancia) fueron calculados usando el programa estadístico PRIMER versión 5. La riqueza taxonómica fue determinada por el número total de taxones. La abundancia total correspondió a la suma de todos los taxones de cada sitio de muestreo y expresada como el número de individuos por unidad de superficie (ind/m²). En Brasil y Paraguay se trabajó con la abundancia relativa, calculada como la proporción de individuos de un taxón dado entre el número total de taxones observados de una muestra. Asimismo, se determinaron el índice de Margalef, diversidad de Shannon-Wiener, dominancia de Simpson y equitatividad de Pielou.

El índice de Margalef (d) se utiliza para estimar la diversidad de una comunidad con base en la distribución numérica de los individuos de las diferentes especies en función del número de individuos existentes en la muestra analizada y se calcula como:

$$d = (S-1) / \text{Log}(N)$$

donde S es el número de taxones y N número total de individuos en la muestra.

El índice de diversidad de Shannon-Wiener (H'), basado en la abundancia proporcional de los taxones, se calculó mediante la ecuación:

$$H' = -\sum (p_i) \times \text{Log}(p_i)$$

donde p_i es la proporción del número total de individuos del taxón i en el ensamble.

La dominancia de Simpson fue calculada como:

$$D' = 1 - \sum (n_i(n_i-1) / (N(N-1)))$$

donde n_i es el número de individuos del taxón i de la muestra y N es el número total de individuos de la muestra.

La equitatividad de Pielou mide la proporción de la diversidad observada con relación a la máxima diversidad

$$J' = H' / \log S$$

donde H' es el índice de Shannon-Wiener y S número de taxones en la muestra. Es decir, analiza con qué grado de igualdad están representadas las especies presentes en una muestra. Cuando las abundancias de una muestra son similares, el valor establecido por el índice es máximo (1), mientras que cuando son muy diferentes el valor del índice se acerca a cero (Magurran 1988). Además, se calculó la abundancia relativa de los grandes grupos taxonómicos (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera, Diptera, entre otros), el porcentaje de EPT (Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera) y la riqueza de cada uno de estos ordenes (Riq Ephem, Riq Plec, Riq Trichop).

Los patrones de abundancia del ensamble de macroinvertebrados fueron analizados por medio de técnicas multivariadas utilizando el programa PRIMER versión 5 (Clarke & Gorley, 2001). Con el fin de reducir la contribución de los taxones más abundantes los datos fueron transformados previamente a $\log(x+1)$ y se utilizó el índice de similitud de Bray Curtis. Un análisis de agrupamiento de CLUSTER se realizó con los datos de abundancia de cada arroyo y se aplicó el método por promedio de pares de grupos (Clarke & Warwick, 2001). Para la primera etapa, La Plata – Arrecifes, se analizaron todos los muestreos realizados en 2011- 2012 y se utilizó como factor el uso del suelo de la cuenca. Para corroborar si existían diferencias significativas entre los distintos grupos (reserva, ganadería, agricultura La Plata y agricultura Arrecifes) se realizó el análisis de similitud ANOSIM. Esta rutina realiza comparaciones de similitud promedio entre diferentes grupos definidos a priori mediante la realización de permutaciones. Debido a que es un análisis no paramétrico, no es necesario que las variables cumplan los supuestos de normalidad y homocedasticidad de la varianza. En esta rutina cuando los valores del estadístico R global son cercanos a cero indica que los ensambles son similares, mientras que valores cercanos a 1 indican grandes diferencias en la composición de los ensambles. Luego, se calculó el porcentaje de similitud (SIMPER) para determinar cuáles fueron los taxones que más contribuyeron a las diferencias de los ensambles de macroinvertebrados entre los distintos grupos (Clarke & Warwick, 2001). Para la segunda etapa se realizó un CLUSTER analizando sólo los muestreos de Arrecifes 2011-2014 y el factor utilizado fue la fecha del muestreo. Luego

se realizaron dos ANOSIM, uno con los grupos formados por el CLUSTER y otro definido a priori, según la fecha de muestreo. Para ambos análisis se calculó el porcentaje de similitud SIMPER. Para los muestreos en Brasil se realizó un CLUSTER y los factores utilizados fueron la franja de atenuación y la concentración de agrotóxicos totales.

Para evaluar las relaciones entre los parámetros limnológicos, concentraciones de agrotóxicos y ensambles de macroinvertebrados de los arroyos muestreados en Arrecifes se realizó un análisis multivariado con el programa CANOCO versión 4.53 (ter Braak & Smilauer 1998). Los valores de abundancia relativa de los taxones de cada uno de los relevamientos fueron utilizados para construir una matriz. Los taxones cuya abundancia relativa total presentó una contribución menor al 0,5% fueron eliminadas del análisis para disminuir la influencia de especies raras. Debido a que las variables ambientales poseen diferentes unidades de medida, los datos fueron normalizados. Previo al ordenamiento se realizó un análisis de correspondencia detendenciado (DCA) con la matriz de taxones para determinar si la variación de los datos responde de forma unimodal o lineal. Debido a que la longitud del gradiente fue <2 unidades de desviación estándar para el primer eje, se llevó a cabo un análisis de redundancia (RDA) (ter Braak & Smilauer 1998; Leps & Smilauer 2003). Inicialmente, se incluyeron en el análisis todos los parámetros fisicoquímicos, agrotóxicos y descriptores ambientales. Aquellas variables que evidenciaron covariación (factor de inflación de la varianza >10) fueron removidas. El análisis final fue realizado sobre las variables remanentes. La significancia global para el primer eje y para la suma de todos los ejes fue testado mediante el test permutaciones de Monte Carlo ($p < 0,05$; 499 permutaciones). Los dos primeros ejes fueron utilizados y se graficaron dos biplot: uno que incluyó el ordenamiento de sitios según fecha de muestreo junto con las variables ambientales seleccionadas y otro con el ordenamiento de los taxones y las mismas variables ambientales.

Región Pampeana (Argentina)

RESULTADOS

1ª Etapa: Arroyos con distinto uso del suelo en sus cuencas (La Plata – Arrecifes, 2011-2012).

Variables ambientales

Los resultados de las variables ambientales, determinadas en el período 2011-2012, no mostraron diferencias significativas entre los arroyos según el uso del suelo. Los valores medios de pH de cada arroyo variaron entre próximo a la neutralidad (6,8) y alcalino (9,1). La conductividad presentó un amplio rango de variación, el sitio Horqueta 2 (H2) de Arrecifes registró el valor más alto (1510 $\mu\text{S}/\text{cm}$) y Poblet (Po) en La Plata, el más bajo (220 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Los sólidos suspendidos variaron considerablemente entre los distintos sitios de muestreo (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Valores medios y rangos de variación de las variables ambientales en los sitios de muestreo.

Región Uso del suelo	La Plata			Arrecifes
	Reserva	Ganadería	Agricultura	Agricultura
pH	8,9 (8,7-9,0)	7,5 (7,2-8,0)	7,2 (6,7-8,3)	7,8 (6,8-9,1)
Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	997 (870-1124)	904 (284-1094)	332 (220-554)	842 (390-1510)
Sol Susp (mg/l)	153 (29-278)	11 (11-11)	71 (4 – 289)	25 (0,2-119)
N-NO₂⁻ ($\mu\text{g}/\text{l}$)	10,7 (9-13)	7 (7-7)	16,9 (3-23)	64 (10-405)
N-NO₃⁻ ($\mu\text{g}/\text{l}$)	105 (86-125)	161 (161-161)	140 (50-237)	2875 (572-8165)
N-NH₄⁺ ($\mu\text{g}/\text{l}$)	69 (5-133)	80 (13-147)	108 (17-367)	54 (6-213)
PRS ($\mu\text{g}/\text{l}$)	113 (103-123)	139 (46-232)	828 (549-1170)	249 (46-802)
COT %	2,1	5,4 (2-7,3)	5,8 (5,5-6,1)	1,0 (0,4-1,9)
Arena %	39	34 (26-49)	24 (24-24)	46 (23-66)
Limo %	42	43 (35-52)	44 (32-55)	40 (29-48)
Arcilla %	19	23 (16-31)	32 (21-44)	14 (5-32)

Cond: conductividad, Sol Susp: sólidos suspendidos, nutrientes (N-NO₂⁻: nitritos, N-NO₃⁻: nitratos, N-NH₄⁺: amonio y PRS: fósforo reactivo soluble), COT: carbono orgánico total y textura (porcentaje de arena, limo y arcilla).

Las concentraciones de nutrientes registraron diferencias significativas para los distintos usos del suelo. La concentración de PRS fue significativamente mayor en la zona agrícola de La Plata respecto a los demás sitios (ANOVA, Tukey $p < 0,005$). La concentración de nitrato (N-NO_3^-) resultó significativamente mayor en la zona agrícola de Arrecifes a las determinadas en los restantes sitios de muestreo (Kruskal Wallis, Dunn's $p < 0,005$). El análisis de las concentraciones de amonio (N-NH_4^+) no registró diferencias significativas para los distintos usos del suelo (Tabla 3.1). En Arrecifes, se observó que las concentraciones de nitrato resultaron significativamente mayores en el muestreo de abril (prom: $4767 \pm 2084 \mu\text{g/l}$), período en que se cosecha la soja y queda el barbecho, que las concentraciones determinadas en los muestreos de enero y marzo durante el crecimiento de la soja (prom: 2055 ± 863 ; $2228 \pm 979 \mu\text{g/l}$ respectivamente) (ANOVA, Tukey $p < 0,005$).

La acumulación de carbono orgánico total (COT) en los sedimentos resultó significativamente menor en los arroyos de Arrecifes que en los de La Plata (ANOVA, Tukey $p < 0,005$). Asimismo, la textura del fondo resultó significativamente distinta entre ambas regiones (Kruskal Wallis, Dunn's $p < 0,005$); donde el contenido de arena fue mayor en los sitios de Arrecifes respecto a los sitios de La Plata y, por el contrario, el porcentaje de arcilla fue menor en Arrecifes y mayor en La Plata.

Agrotóxicos

Los agrotóxicos detectados en los sedimentos de los arroyos fueron los más comúnmente utilizados en los cultivos de la región: clorpirifos, cipermetrina, lambda-cialotrina, endosulfán y, su producto de degradación, endosulfán sulfato. En la reserva y los arroyos de cuencas con ganadería no se detectó la presencia de agrotóxicos, con la excepción de algunos muestreos donde se registraron bajas concentraciones de clorpirifos ($< 1 \text{ ng/g}$ peso seco) y un muestreo realizado en marzo 2012, en el arroyo ganadero Cajaravilla donde se registró $5,2 \text{ ng/g}$ peso seco del mismo. En la Tabla 3.2 se muestran las concentraciones detectadas de los biocidas en las distintas fechas de muestreo para los arroyos agrícolas de La Plata y la zona de Arrecifes.

Tabla 3.2. Concentraciones de los biocidas en sedimentos por muestreo para el período 2011-2012.

Lugar Fecha N° de muestras		La Plata [#]		Arrecifes		
		dic-2011	mar-2012	ene-2012	mar-2012	abr-2012
		2	2	6	7	5
Clorpirifos	Frecuencia	100%	67%	100%	100%	100%
	Máximo (ng/g)	4,9	7,4	2,7	3,6	2,0
	Media (ng/g)	3,6	5,7	1,4	1,9	0,8
	± sd	1,8	2,4	0,9	1,0	0,7
Endosulfán	Frecuencia	100%	50%	100%	43%	40%
	Máximo (ng/g)	31,9	4,1	1,2	2,1	1,4
	Media (ng/g)	26,4		0,6	1,7	1,0
	± sd	7,8		0,4	0,7	0,7
Endosulfan Sulfato	Frecuencia	100%	50%	100%	57%	100%
	Máximo (ng/g)	155,6	37,6	5,0	6,2	1,7
	Media (ng/g)	118,0		1,2	2,4	0,8
	± sd	53,1		1,9	2,6	0,6
Cipermetrina	Frecuencia	100%	0%	50%	29%	20%
	Máximo (ng/g)	1,9		8,3	4,2	2,7
	Media (ng/g)	1,7		2,9	3,7	
	± sd	0,3		4,7	0,7	
Lambda-cialotrina	Frecuencia		0%		29%	60%
	Máximo (ng/g)	NA		NA	6,1	5,1
	Media (ng/g)				3,3	2,0
	± sd				4,0	2,6
Agrotóxicos total	Máximo (ng/g)	194	49	12	15	12
	Media (ng/g)	150	27	5	6	4
	± sd	63	32	5	6	5

Límite de cuantificación: 0,5 ng/g peso seco

[#] sitios agrícolas

NA: No Analizado

Método: GC-ECD

Clorpirifos tuvo la mayor frecuencia de detección en las dos regiones examinadas y para casi todos los eventos de muestreo (67 a 100%). Las concentraciones máximas oscilaron entre 2,7 y 7,4 ng/g peso seco (ps), con la mayor concentración medida en la región de La Plata.

Endosulfán y endosulfán sulfato se detectaron con frecuencia en ambas regiones. Sin embargo, en los sitios agrícolas de La Plata, se obtuvieron las concentraciones más altas 31,9 ng/g ps para el endosulfán y 155,6 ng/g ps para el endosulfán sulfato. Durante el primer período de muestreo, el biocida endosulfán fue ampliamente utilizado en la producción de soja y en muchos cultivos de Argentina (OPDS, 2013). A partir de julio

2012, Argentina prohibió la importación del principio activo y formulados del endosulfán y, para julio 2013, su elaboración y uso.

Cipermetrina se detectó en ambas regiones, mientras que lambda-cialotrina no fue detectado en las muestras de La Plata, pero si en la región de Arrecifes. Las concentraciones máximas oscilaron entre 1,9 y 8,3 ng/g ps para la cipermetrina y entre 5,1 y 6,1 ng/g ps para lambda-cialotrina.

Unidades Tóxicas (UT)

En la zona de La Plata, de agricultura mixta, los valores máximos de UT-Totales para los muestreos de 2011 y 2012 fueron 0,55 y 0,7 respectivamente. En Arrecifes, con producción intensiva de soja, los valores máximos de UT-Totales fueron de 1,39 y 1,81 en marzo y abril 2012 respectivamente (Tabla 3.3).

Cabe destacar, que las concentraciones de agrotóxicos totales fueron mayores en La Plata (Tabla 3.2), sin embargo, las UT totales fueron mayores en Arrecifes. Esto se debe a que las dosis letales en *H. curvispina* son mucho menores para los piretroides. En Arrecifes, fueron los piretroides (cipermetrina y lambda-cialotrina) los principales contribuyentes a los altos valores de UT-totales; mientras que, en La Plata, el principal contribuyente, fue endosulfán sulfato.

Si la UT es mayor que 1 significa que la concentración resulta mayor a la dosis letal 50, sugiriendo un efecto importante en la comunidad. En la tabla 3.3 se observa que el biocida que registró mayores UT fue lambda cialotrina, a pesar de que endosulfán sulfato fue el que se determinó en mayor concentración (Tabla 3.2).

Tabla 3.3. Unidades Tóxicas de los biocidas más utilizados calculados para cada muestreo. La Unidad Tóxica Total (UT-total) fue calculada sumando las UT de todos los agrotóxicos.

Fecha	Región	Cuenca	Sitio	UT Clorp ^a	UT λ-Cialo ^a	UT Ciper ^a	UT Endo ^a	UT Endo-Sul ^b	UT total
dic-2011	La Plata	Reserva	JB	nd	NA	nd	nd	nd	nd
		Ganadera	Ar	nd		nd	nd	nd	nd
			Caj	nd	NA	nd	nd	nd	nd
			IC	nd		nd	nd	nd	nd
		Agrícola	Po	0,014	NA	0,013	0,011	0,279	0,316
ene-2012	Arrecifes	Agrícola	Re	0,026		0,015	0,016	0,488	0,545
			CO1	0,015		0,013	0,001	0,004	0,034
			CA	0,032		0,211	0,001	0,012	0,256
			H0	0,076	NA	nd	0,003	0,012	0,091
			H2	0,076		nd	0,003	0,084	0,164
mar-2012	Arrecifes	Agrícola	MG	0,012		nd	nd	nd	0,012
			CO1	0,047	nd	nd	0,005	0,019	0,071
			A2	0,065	nd	nd	nd	nd	0,065
			A3	0,031	nd	nd	nd	0,011	0,042
			CA	0,041	1,252	0,082	0,001	0,016	1,393
			H0	0,221	nd	nd	nd	nd	0,221
			H2	0,075	nd	0,178	0,005	0,105	0,363
			MG	0,047	nd	nd	nd	nd	0,047
	La Plata	Reserva	JB	0,026	nd	nd	nd	nd	0,026
		Ganadera	Ar	nd	nd	nd	nd	nd	nd
			Caj	0,120	nd	nd	nd	nd	0,120
			IC	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		Agrícola	Po	0,093	nd	nd	nd	nd	0,093
			Re	0,171	nd	nd	0,009	0,516	0,696
	abr-2012	Arrecifes	CO1	0,054	1,632	0,107	0,001	0,021	1,815
			A2	nd	nd	nd	0,011	0,080	0,091
			A3	nd	nd	nd	nd	0,008	0,008
			H0	0,027	nd	nd	nd	0,016	0,043
			MG	0,014	nd	nd	0,0004	0,006	0,020
		Reserva	JB	0,012	nd	nd	nd	nd	0,012
		La Plata	Ar	0,023	nd	nd	nd	nd	0,023
			Caj	0,003	nd	nd	nd	nd	0,003
			IC			NA			
			Po			NA			
			Re			NA			

Clorp: clorpirifos, λ-Cialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Endo: endosulfán, Endo-Sul: endosulfán sulfato. NA: no analizado. nd: no detectado. LP: La Plata (JB: Juan Blanco, Ar: Arregui, Caj: Cajarravilla, IC: Ignacio Correa, Po: Poblet y Re: Remes). Arrecif: Arrecifes (MG: Maguire, Ca: Cañete, H0: Horqueta0, H2: Horqueta2, CO1: Contador1, A2: Luna2 y A3: Luna3).

^a:LC₅₀ para *Hyalella curvispina* ^b:LC₅₀ para *Chironomus tentans* (You *et al.*, 2004a).

Ensamble de macroinvertebrados

En la Tabla 3.4 se muestran las 48 entidades taxonómicas identificadas. En la región de La Plata, el arroyo ubicado en la reserva, Juan Blanco (JB), se caracterizó por ser el único donde se registró una elevada abundancia de Paleomonidae (decapoda); el cual estuvo ausente o en baja densidad en los demás arroyos. Los sitios de cuencas ganaderas (IC, Ar y Caj) presentaron variaciones entre ellos, aunque todos registraron una alta abundancia del orden Amphipoda (*Hyalella*). Ignacio Correa (IC) se caracterizó por la abundancia de Hirudinea, Arregui (Ar) por el efemeróptero Caenidae y,

Cajaravilla (Caj) por la gran densidad de *Hyalella*. En la cuenca agrícola del arroyo Pescado, los sitios Remes (Re) y Poblet (Po), los taxones pertenecientes a la clase Hirudinea, Oligochaeta, Bivalvia y el filo Nematoda fueron los grupos taxonómicos mejor representados. Los arroyos de Arrecifes presentaron una amplia variabilidad entre ellos. Al igual que en los arroyos agrícolas de La Plata, se registraron entre los grupos más abundantes la clase Hirudinea y Oligochaeta, aunque a diferencia de los primeros se observó también una mayor densidad de Gastropoda y del orden Diptera (Chironomidae); además, en algunos sitios se encontraron bien representados los ordenes Amphipoda (*Hyalella*), Decapoda (Aeglidae) y Ephemeroptera (Baetidae y Caenidae).

Tabla 3.4. Abundancia (ind/m²) media de cada taxón durante el período 2011-2012 para cada uno de los sitios muestreados en La Plata y Arrecifes.

(ind/m ²)		Arrecifes							La Plata					
		Agric							Res	Gan			Agric	
Filo u Orden	Taxones	A2	A3	CA	CO1	H0	H2	MG	JB	IC	Ar	Caj	Po	Re
Platyhelminthes		0	1	1	0	1	1	1	8	0	0	1	0	0
Oligochaeta		16	121	7	74	7	14	1	9	2	33	0	130	481
Hirudinea		1	6	15	31	8	2	0	0	42	32	16	10	245
Nematoda		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22
Mollusca		34	85	1	8	2	8	13	1	3	1	2	2	129
Bivalvia		16	1	0	4	0	0	1	0	0	0	0	0	125
Gastropoda		18	84	1	4	2	8	12	1	3	1	2	2	4
	Ancylidae	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Gastropoda inid	17	84	1	4	2	8	12	1	3	1	2	1	4
Crustacea		1	3	2	10	34	16	9	110	28	114	208	1	1
Amphipoda	Hyalellidae	0	2	2	1	26	16	4	1	28	113	207	1	0
Branchiura	Argulidae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Decapoda		1	1	0	0	9	0	4	109	0	0	1	0	0
	Aegidae	1	1	0	0	9	0	1	0	0	0	0	0	0
	Palaemonidae	0	0	0	0	0	0	3	109	0	0	1	0	0
Ostracoda		0	0	0	9	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Acari		0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
Collembola		0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Insecta														
Ephemeroptera		9	1	1	1	30	0	21	2	2	17	0	0	0
	Baetidae	1	0	0	1	18	0	12	0	0	0	0	0	0
	Caenidae	7	1	1	0	11	0	6	2	2	17	0	0	0
	Leptohyphidae	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	Ephem inid	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
Odonata		0	0	0	3	1	1	1	1	1	6	3	0	3
	Aeshnidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	Coenagrionidae	0	0	0	2	1	1	0	1	0	3	1	0	0
	Libellulidae	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	Odonata inid	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	1	0	1
Heteroptera		0	1	0	1	2	0	0	4	1	2	0	0	1
	Belostomatidae	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	Corixidae	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1
	Gerridae	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nepidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Notonectidae	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
Trichoptera	Hydroptilidae	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Diptera		6	9	3	132	53	207	44	2	8	10	4	4	12
	Ceratopogonidae	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	8
	Chironomidae	6	9	3	130	41	205	44	2	6	8	2	1	4
	Culicidae	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Ephydriidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	Stratiomyidae	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
	Syrphidae	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Diptera inid	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0
Coleoptera		4	2	1	3	3	0	2	1	6	1	4	0	0
	Curculionidae	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Dytiscidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Elmidae	4	1	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0
	Hydrophilidae	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0
	Berosus	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0
	Enochrus	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Helobata	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0
	Tropisternus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Noteridae	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Scirtidae	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sphaeridiinae	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Coleopt inid	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Abundancia media total		70	230	30	264	142	250	92	138	92	216	237	147	895
Riqueza media		7	7	5	9	10	7	7	5	10	11	9	4	7

Arrecifes (A2: Luna2, A3: Luna3, CO1: Contador1, Ca: Cañete, H0: Horqueta 0, H2: Horqueta 2, MG: Maguire)

La Plata (JB: Juan Blanco, IC: Ignacio Correa, Ar: Arregui, Caj: CajarraVilla, Po: Poblet y Re: Remes)

inid: inidentificado Agric: agricultura Res: reserva Gan: ganadería

El análisis CLUSTER (Figura 3.1) mostró agrupamientos entre los ensambles de macroinvertebrados en arroyos con distinto uso del suelo. Los muestreos del arroyo situado en la reserva se segregaron en un único grupo (A) como así también los de sitios con ganadería (B). A su vez, los arroyos agrícolas de La Plata y Arrecifes forman los grupos C, D, E y F. Los grupos C, D y E están formados fundamentalmente por los arroyos de Arrecifes, con la excepción de un muestreo en Remes. El grupo F, está conformado principalmente por los sitios Remes y Poblet de la zona de La Plata, si bien incorpora algunos de los arroyos de Arrecifes.

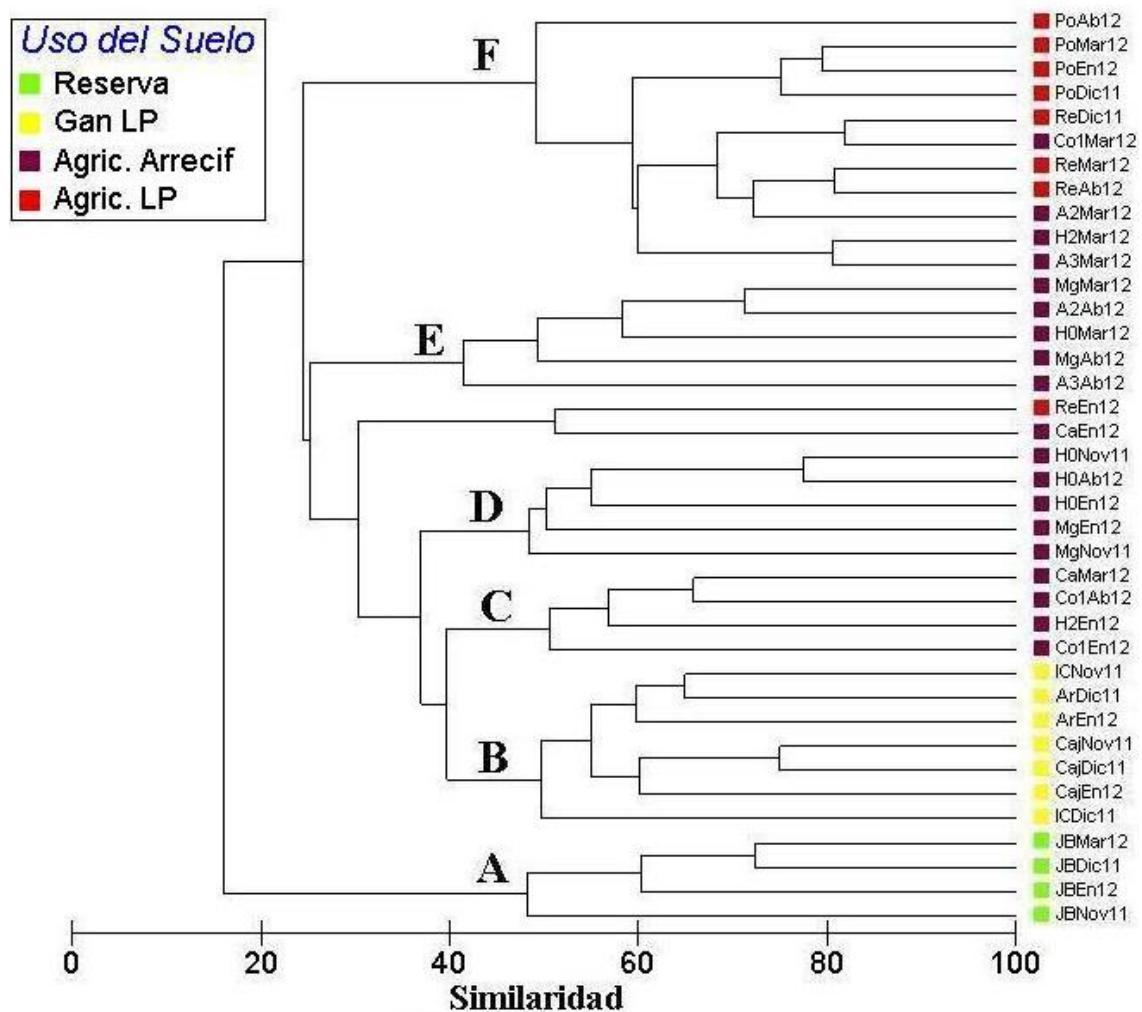


Figura. 3.1. Cluster del ensamble de macroinvertebrados durante el período muestreado 2011-2012 (Nov11, Dic11, En12, Mar12 y Ab12) para los sitios de La Plata (JB: Juan Blanco, Ar: Arregui, Caj: Cajaravilla, IC: Ignacio Correa, Po: Poblet y Re: Remes) y Arrecifes (Mg: Maguire, Ca: Cañete, H0: Horqueta0, H2: Horqueta2, Co1: Contador1, A2: Luna2 y A3: Luna3).

El análisis ANOSIM muestra que existen diferencias significativas entre los ensambles de los arroyos con distinto uso del suelo en sus cuencas (Global R: 0,51; p: 0,001). El ensamble del arroyo de la reserva resultó significativamente distinto de todos los demás usos del suelo (Tabla 3.5). Los ensambles de los arroyos agrícolas de La Plata mostraron diferencias significativas con los de Arrecifes, como así también entre estos y los arroyos de cuencas con ganadería.

Tabla 3.5. Valores del análisis ANOSIM para los test de a pares que resultaron significativamente distintos. Se informa el R de cada par y el nivel de significancia.

Pares	Estadístico R	Significancia
Agric. Arrecifes vs. Ganadería LP	0,28	0,003
Agric. Arrecifes vs. Agric. LP	0,40	0,002
Agric. Arrecifes vs. Reserva	0,61	0,001
Ganadería LP vs. Reserva	0,98	0,003
Ganadería LP vs. Agric. LP	0,93	0,001
Reserva vs. Agric. LP	0,93	0,002

En el análisis SIMPER se identificaron 12 taxones como principales contribuyentes a la disimilitud entre los pares que presentaron diferencias significativas en el ANOSIM, representados por los taxones Aeglidae, Baetidae, Bivalvia, Caenidae, Chironomidae, Coenagrionidae, Gastropoda, *Helobata*, Hirudinea, *Hyalella*, Oligochaeta y Palaemonidae. En la Tabla 3.6 se muestran los taxones que contribuyeron aproximadamente en un 70% a la disimilitud entre los sitios.

Los Palaemonidae contribuyeron a la mayor diferencia entre la composición del ensamble en la reserva y los demás usos del suelo. Para las cuencas ganaderas, el principal aporte a la diferencia fue el anfípodo *Hyalella*, Chironomidae y Oligochaeta representaron la mayor contribución a la disimilitud en los usos del suelo agrícola, además de Bivalvia para las cuencas agrícolas de La Plata y Gastropoda en Arrecifes.

Tabla 3.6. Resultado del análisis SIMPER. Se muestra el promedio de la abundancia relativa porcentual (%Abund.) y el porcentaje de contribución (%Contrib) de los taxones que aportaron en mayor medida a la disimilitud de los sitios (Agric. Arrecif: agricultura Arrecifes, Gan LP: ganadería La Plata, Agric. LP: agricultura La Plata, reserva)

Taxones	%Abund	%Contrib	Taxones	%Abund	%Contrib		
% Disimilaridad = 81,69 Agric. Arrecif Reserva			% Disimilaridad = 85,43 Gan LP Reserva				
Palaemonidae	0,27	4,33	22,35	Palaemonidae	0,09	4,33	21,44
Chironomidae	2,77	0,57	12,72	Hyalella	4,06	0,58	18,02
Oligochaeta	1,51	0,94	9,35	Hirudinea	2,72	0,00	13,42
Gastropoda	1,53	0,44	8,12	Oligochaeta	0,78	0,94	6,24
Hyalella	1,24	0,58	6,37	Chironomidae	1,12	0,57	5,05
Hirudinea	1,10	0,00	6,29	Gastropoda	0,82	0,44	4,24
Caenidae	1,26	0,86	6,21	Caenidae	0,68	0,86	4,19
% Disimilaridad = 69,04 Agric. Arrecif Gan LP			% Disimilaridad= 76,14 Gan LP Agric. LP				
Hyalella	1,24	4,06	15,36	Hyalella	4,06	0,05	23,25
Hirudinea	1,10	2,72	10,28	Oligochaeta	0,78	4,11	19,61
Chironomidae	2,77	1,12	10,25	Hirudinea	2,72	1,72	8,55
Oligochaeta	1,51	0,78	8,34	Bivalvia	0,00	1,13	6,26
Gastropoda	1,53	0,82	7,29	Chironomidae	1,12	0,43	5,12
Caenidae	1,26	0,68	6,46	Gastropoda	0,82	0,40	3,93
Baetidae	0,94	0,00	4,54	Helobata	0,74	0,00	3,60
Helobata	0,00	0,74	3,41				
Coenagrionidae	0,12	0,55	2,90				
Aeglidae	0,56	0,00	2,57				
Bivalvia	0,47	0,00	2,45				
% Disimilaridad = 73,82 Agric. Arrecif Agric. LP			% Disimilaridad = 88,54 Reserva Agric. LP				
Oligochaeta	1,51	4,11	16,49	Palaemonidae	4,33	0,00	27,05
Chironomidae	2,77	0,43	14,50	Oligochaeta	0,94	4,11	21,09
Hirudinea	1,10	1,72	9,62	Hirudinea	0,00	1,72	10,35
Gastropoda	1,53	0,40	8,78	Bivalvia	0,00	1,13	6,75
Bivalvia	0,47	1,13	7,58	Caenidae	0,86	0,00	5,46
Hyalella	1,24	0,05	7,16				
Caenidae	1,26	0,00	6,90				

Relaciones del ensamble de macroinvertebrados con los agrotóxicos y parámetros físico-químicos

En la Tabla 3.7 se muestran las correlaciones entre las concentraciones de agrotóxicos y la abundancia de los distintos taxones de macroinvertebrados (ind/m²). Dos familias, Palaemonidae y Caenidae, presentaron una correlación negativa con la mayoría de los biocidas estudiados (clorpirifos, cipermetrina, endosulfán, endosulfán sulfato y agrotóxicos totales), al igual que los ordenes a los cuales pertenecen, Decapoda y Ephemeroptera respectivamente. Seis grupos taxonómicos registraron correlación positiva con la concentración de uno o más agrotóxicos, estos son Hirudinea, Oligochaeta, Gastropoda (Ancyliidae), Odonata (Coenagrionidae), Coleoptera (Curculionidae) y Heteroptera. Los taxones que muestran correlación con las concentraciones de los biocidas son los que contribuyen a las diferencias entre los ensambles, detectadas por el análisis SIMPER.

Tabla 3.7. Correlaciones entre la abundancia de los macroinvertebrados (ind/m²) y la concentración de los agrotóxicos determinados para el período de muestreo 2011-2012 en la región de La Plata y Arrecifes.

		Clorp	λ-Cialo	Ciper	Endo	Endo-Sul	Agrotóx. T
Crustacea	r	-0,58	*	*	-0,43	*	-0,61
	p	0,002			0,030		0,001
Decapoda	r	-0,52	*	-0,46	-0,47	-0,42	-0,50
	p	0,007		0,020	0,016	0,033	0,009
Palaemonidae	r	-0,58	*	*	-0,48	-0,50	-0,58
	p	0,002			0,014	0,010	0,002
Ephemeroptera	r	-0,54	*	-0,49	-0,62	-0,51	-0,59
	p	0,005		0,011	0,000	0,008	0,002
Caenidae	r	-0,42	*	-0,47	-0,48	-0,50	-0,48
	p	0,035		0,017	0,014	0,010	0,013
Oligochaeta	r	0,64	*	*	*	0,40	0,58
	p	0,000				0,041	0,002
Hirudinea	r	*	*	0,47	0,49	*	*
	p			0,016	0,011		
Ancylidae	r	*	*	*	0,39	*	*
	p				0,048		
Coenagrionidae	r	*	0,55	*	*	*	*
	p		0,033				
Heteroptera	r	*	0,55	*	*	*	*
	p		0,033				
Curculionidae	r	*	0,52	*	*	*	*
	p		0,046				

Clorp: clorpirifos, λ-Cialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Endo: endosulfán, Endo-Sul: endosulfán sulfato, Agrotóx. T: agrotóxicos totales, * : no significativo

Relaciones con las características del hábitat

En la Tabla 3.8 se muestra las correlaciones determinadas entre la abundancia de macroinvertebrados con las características del hábitat. Se observó que Chironomidae (Diptera), dos familias del orden Ephemeroptera (Baetidae y Leptohyphidae) y la clase Gastropoda se correlacionaron de forma positiva con la concentración de nitratos, mientras siete grupos taxonómicos se correlacionaron negativamente con la concentración de PRS (*Hyaella*, Palaemonidae, Crustacea, Stratiomyidae, Baetidae, Caenidae y Ephemeroptera) y sólo Oligochaeta lo hizo de forma positiva.

Trece grupos taxonómicos se correlacionaron con el contenido de COT en sedimentos. La abundancia aumentó con la materia orgánica sólo en cuatro taxones (Ephydriidae, Hydrophilidae, Aeshnidae, Hirudinea) mientras que en los restantes la abundancia disminuyó, entre ellos se encuentran Ephemeroptera (Baetidae, Caenidae y Leptohyphidae) y Decapoda (Aeglidae). La abundancia de varios grupos taxonómicos se relacionó con la textura del sedimento, diez grupos con la proporción de arena y 11 con la de arcilla. Decapoda (Aeglidae), Coleoptera (Elmidae), Diptera (Chironomidae) y Ephemeroptera (Baetidae, Caenidae, Leptohyphidae) registraron una correlación negativa con el contenido de arcillas, mientras que tres taxones (Acari, Hirudinea y Oligochaeta) se correlacionaron de forma positiva. La abundancia de ocho taxones aumentó con el aumento de la proporción de arena (Crustacea (Decapoda: Aeglidae) Coleoptera, Ephemeroptera y dentro de este último, las familias Baetidae, Caenidae y Leptohyphidae), mientras que Acari y Oligochaeta disminuyeron. Seis taxones registraron correlación simultánea, positiva con la arena y negativa con la arcilla y, dos taxones registraron la condición inversa (Acari y Oligochaeta). A su vez, ocho grupos taxonómicos mostraron correlación negativa simultánea con el contenido de COT y arcilla.

La abundancia de los taxones Crustacea (*Hyaella*), Diptera (Stratiomyidae) y Odonata se correlacionó positivamente con la riqueza de familias de la vegetación acuática y Gastropoda negativamente. Asimismo, se puede observar que la abundancia de Hydrophilidae, Crustacea y dentro de este último *Hyaella* se correlacionaron positivamente con la franja de atenuación.

Tabla 3.8. Relaciones entre la abundancia de los macroinvertebrados y las variables ambientales determinadas para el período de muestreo 2011-2012 en La Plata y Arrecifes.

		N-NO ₂	N-NO ₃	PRS	COT	Arena	Limo	Arcilla	Franja	Veg
Oligochaeta	r p	*	*	0,64 0,000	*	-0,41 0,011	*	0,40 0,014	-0,32 0,048	*
Hirudinea	r p	*	*	*	0,50 0,002	*	*	0,38 0,019	*	*
Bivalvia	r p	*	*	*	*	*	*	*	-0,57 0,000	*
Gastropoda	r p	*	0,43 0,025	*	*	*	*	*	*	-0,40 0,013
Crustacea	r p	*	*	-0,62 0,000	*	0,36 0,026	*	*	0,60 0,000	0,59 0,000
<i>Hyaella</i>	r p	*	*	-0,44 0,021	*	*	*	*	0,42 0,009	0,59 0,000
Decapoda	r p	*	*	-0,58 0,002	-0,37 0,021	0,50 0,002	*	-0,47 0,003	*	*
Aeglidae	r p	*	*	*	-0,60 0,000	0,56 0,000	-0,47 0,003	-0,60 0,000	*	*
Palaemonidae	r p	*	*	-0,38 0,049	*	*	*	*	*	*
Acari	r p	*	*	*	*	-0,34 0,039	*	0,35 0,034	*	*
Ephemeroptera	r p	*	0,46 0,017	-0,51 0,006	-0,60 0,000	0,52 0,000	*	-0,59 0,000	*	*
Baetidae	r p	*	0,38 0,048	-0,55 0,003	-0,61 0,000	0,48 0,002	*	-0,58 0,000	*	*
Caenidae	r p	*	*	-0,42 0,030	-0,52 0,000	0,45 0,005	*	-0,48 0,002	*	*
Leptohyphidae	r p	*	0,45 0,020	*	-0,46 0,004	0,43 0,008	*	-0,47 0,003	*	*
Odonata	r p	*	*	*	*	*	*	*	*	0,34 0,037
Aeshnidae	r p	*	*	*	0,43 0,007	*	*	*	*	*
Diptera	r p	0,53 0,004	0,52 0,006	*	-0,32 0,049	*	*	*	*	*
Ceratopogonidae	r p	*	*	*	*	*	-0,37 0,024	*	*	*
Chironomidae	r p	0,49 0,010	0,60 0,001	*	-0,46 0,004	*	*	-0,34 0,037	*	*
Ephydriidae	r p	*	*	*	0,33 0,040	*	*	*	*	*
Stratiomyidae	r p	*	*	-0,40 0,038	*	*	*	*	*	0,35 0,034
Coleoptera	r p	*	*	*	*	0,35 0,030	*	*	*	*
Elmidae	r p	*	*	*	-0,44 0,006	*	*	-0,41 0,012	*	*
Hydrophilidae	r p	*	*	*	0,53 0,000	*	*	*	0,46 0,004	*

N-NO₂: nitrito, N-NO₃: nitrato, PRS: fósforo reactivo soluble, COT: carbono orgánico total, Franja: franja de atenuación, Veg: riqueza de familias de la vegetación. * : no significativo.

El contenido de COT se correlacionó positivamente con el contenido de arcilla ($r: 0,69$ y $p < 0,0001$) y negativamente con el de arena ($r: -0,50$; $p < 0,002$). La materia orgánica presentó correlación negativa tanto con el $N-NO_2^-$ ($r: -0,40$; $p < 0,041$) como con el $N-NO_3^-$ ($r: -0,65$; $p < 0,0001$) y una relación positiva con el PRS ($r: 0,44$; $p < 0,023$). El porcentaje de arena en sedimento se correlacionó positivamente con la concentración de $N-NO_3^-$ ($r: 0,55$; $p < 0,003$) y negativamente con el PRS ($r: -0,61$; $p < 0,0001$). La arcilla registró la tendencia opuesta, positiva para el PRS ($r: 0,58$; $p < 0,002$) y negativa para el $N-NO_3^-$ ($r: -0,66$; $p < 0,0001$).

En la Tabla 3.9 se observa que el contenido de arena se correlacionó negativamente con la concentración total de agrotóxicos, clorpirifos y la unidad tóxica del endosulfán sulfato. Por el contrario, la proporción de arcilla se correlacionó positivamente con estos mismos parámetros. El PRS se correlacionó de forma positiva con la concentración de clorpirifos, agrotóxicos totales, sus respectivas unidades tóxicas y la UT de endosulfán sulfato. Resulta de interés destacar que las concentraciones del clorpirifos, endosulfán y los agrotóxicos totales se correlacionaron negativamente con la franja de atenuación (Tabla 3.9).

Tabla 3.9. Relaciones entre las características físicas y químicas del hábitat y la concentración de los agrotóxicos determinadas para el período de muestreo 2011-2012 en la región de La Plata y Arrecifes.

		PRS	Arena	Arcilla	Franja
Clorpirifos	r	0,75	-0,48	0,42	-0,42
	p	0,000	0,014	0,032	0,034
Endosulfán	r	*	*	*	-0,42
	p				0,031
Agrotóxicos totales	r	0,65	-0,43	*	-0,42
	p	0,002	0,030		0,034
UT Clorpirifos	r	0,65	*	*	*
	p	0,003			
UT Endosulfán-Sulfato	r	0,55	-0,53	0,57	*
	p	0,041	0,034	0,021	
UT total	r	0,55	*	*	*
	p	0,012			

PRS: fosforo reactivo soluble, Franja: franja de atenuación.

* : no significativo

2ª Etapa: Arroyos de cuencas agrícolas (Arrecifes 2011-2014)

En la primera etapa se estudiaron arroyos con distinto uso del suelo en sus cuencas. En la segunda etapa se decidió profundizar en el conocimiento de los arroyos con uso de suelo agrícola. Por lo tanto, se suspendieron los muestreos en la reserva y los arroyos ganaderos y se incrementó el número de arroyos en cuencas agrícolas (de siete a diecisiete arroyos), todos en la denominada “zona núcleo” (Pengue, 2000) con intensa agricultura.

Variables ambientales

En la tabla 3.10 se resume los resultados de las variables ambientales determinadas en el período 2011-2014 de todos los arroyos muestreados en Arrecifes. Los valores medios de pH de los arroyos variaron en un rango alcalino (7,5 - 9,1). La conductividad presentó una amplia variación, el sitio Río Saladito Grande (HB) registró el valor más alto (1796 $\mu\text{S}/\text{cm}$) y Horqueta 2 (H2) el más bajo (549 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Los sólidos suspendidos variaron considerablemente entre los distintos arroyos, al igual que la turbidez. El ancho mínimo fue de 1 m y máximo de 12 m. La profundidad osciló entre 0,1 y 1,2 m. Las concentraciones de N-NH_4^+ y PRS resultaron un orden de magnitud menor que las concentraciones de N-NO_3^- , los valores máximos registrados fueron 281, 802 y 9808 $\mu\text{g}/\text{l}$ respectivamente.

Tabla 3.10. Valores medios, mínimos y máximos de las variables ambientales de los arroyos muestreados en Arrecifes 2011-2014.

		3HQ	A2	A3	A4	AN	CA	CO1	CO2	GO	H0	H2	H5	HB	HEL	ING	MG	S2
pH	prom	7,7	7,8	8,1	9,1	8,0	8,0	8,1	8,4	7,5	7,5	7,2	7,7	8,0	8,2	8,1	8,0	8,2
	mín	7,2	7,6	8,1		7,6	7,5	7,5		7,1	6,8	7,0		7,4			7,0	8,1
	máx	8,3	8,1	8,1		8,4	8,3	8,7		7,9	8,1	7,4		8,6			9,1	8,3
Cond (μS/cm)	prom	873	803	951	956	897	807	808	1277	922	886	1030	785	1282	847	920	917	931
	mín	867	759	951		844	673	688	956	892	843	549	663	768	818	891	589	895
	máx	879	847	951		949	897	927	1597	951	929	1510	906	1796	876	949	1133	967
SS (mg/l)	prom	11	15	21	11	11	9	10	3	17	9	116	11	32	3	100	20	6
	mín	5	2	9		9	7	3	3	13	0,2	113	6	17	1	18	5	6
	máx	16	34	33		14	10	17	4	21	18	119	17	47	6	182	42	7
N-NO₂⁻ (μg/l)	prom	169	10	19	31	53	51	55	60	18	61	217	17	39	35	27	27	17
	mín	77	4	17		43	10	20	16	14	23	29	7	29	26	15	2	2
	máx	261	17	21		64	142	91	104	22	104	405	27	50	45	39	48	32
N-NO₃⁻ (μg/l)	prom	3735	3172	3177	1495	5239	4034	4871	3933	4514	2258	1401	3635	4314	3202	4527	2800	3581
	mín	2697	1687	2096		2060	1180	2921	2008	1977	1932	984	1683	1329	1579	1743	572	1788
	máx	4773	4971	4257		8418	9808	8166	5857	7051	2614	1818	5587	7300	4824	7311	6886	5373
N-NH₄⁺ (μg/l)	prom	113	50	25	24	60	98	52	65	131	60	113	114	35	166	54	58	25
	mín	31	6	22		24	24	13	44	31	28	13	57	25	51	30	13	24
	máx	196	135	28		95	183	113	85	231	101	213	171	44	281	77	161	25
PRS (μg/l)	prom	173	226	186	135	254	180	171	165	94	120	695	120	313	348	126	208	89
	mín	135	111	154		169	117	75	111	67	46	588	5	69	169	117	46	67
	máx	211	308	218		339	321	308	219	120	218	802	236	558	526	136	588	111
Ancho (m)	prom	3	7	4	2	3	4	11	3	5	3	2	3	6	4	3	4	2
	mín	3	5	3		3	3	10	3	5	2	1	3	6	4	3	3	2
	máx	3	8	5		4	4	12	4	5	5	3	3	6	4	4	5	3
Prof (m)	prom	0,4	0,8	0,6	0,2	0,4	0,6	1,0	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,5	0,4	0,3	0,6	0,3
	mín	0,4	0,5	0,1		0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,5	0,4	0,3	0,2	0,3
	máx	0,4	1,0	1,0		0,4	1,0	1,2	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,5	0,4	0,3	1,0	0,3
Turb (NTU)	prom	13	20		9	15	11		7	15			12	30	7,1	62	38	12
	mín	9		-		15	8	-	4	14	-	-	9	16	6,8	27	28	11
	máx	16				15	13		10	15			15	45	7,4	96	47	14
COT (%)	prom	1,4	0,8	1,2	0,9	0,7	1,9	1,2	0,6	1,2	0,5	1,1	0,9	0,3	1,9	0,9	0,8	1,5
	mín	1,3	0,4			0,4	1,8		0,4	1,1					1,6	0,6	0,6	1,1
	máx	1,5	1,6			1,0	2,0		0,8	1,3					2,2	1,3	0,9	1,9
Arena	%	25	66	56	47	30	32	41	38	42	64	23	46	34	22	27	38	37
Arcilla	%	21	5	9	15	21	21	13	17	17	5	32	15	19	36	17	15	24
Limo	%	54	29	36	38	48	47	46	46	40	31	44	39	47	42	56	47	40

Cond: conductividad, SS: sólidos suspendidos, nutrientes (N-NO₂⁻: nitritos, N-NO₃⁻: nitratos, N-NH₄⁺: amonio y PRS: fósforo reactivo soluble), Prof: profundidad, Turb: turbidez, COT: carbono orgánico total y textura (porcentaje de arena, limo y arcilla) - dato faltante.

Agrotóxicos

Los agrotóxicos clorpirifos, cipermetrina, lambda-cialotrina, endosulfán y, su producto de degradación, endosulfán sulfato fueron detectados en casi todos los sitios de muestreo de Arrecifes, durante el período 2011-2014 (Tabla 3.11).

Clorpirifos tuvo una frecuencia de detección del 100% en todos los muestreos y la concentración máxima fue de 3,6 ng/g ps. Cipermetrina fue determinada en el 50% de las muestras, mientras que lambda-cialotrina en 60% de las mismas. Las concentraciones máximas oscilaron entre 8,3 y 6,1 ng/g ps respectivamente. La

frecuencia de detección del endosulfán fue del 40% y del endosulfán sulfato 80% y la concentración máxima detectada fue 2,1 y 12,0 ng/g ps respectivamente.

Tabla 3.11 Concentraciones máximas, media y desviación de los biocidas en ng/g de peso seco de sedimentos por arroyo, para el período 2011-2014 en Arrecifes.

(ng/g peso seco)		3HQ	A2	A3	A4	AN	CA	CO1	CO2	GO	H0	H2	H5	HB	HEL	ING	MG	S2
Clorp	máx	1,45	2,61	1,12	1,07	2,18	2,43	2,02	0,71	1,19	3,56	2,67	1,03	1,02	1,21	2,50	1,29	0,83
	media	1,05	1,31	0,81	-	1,35	1,51	1,44	0,56	0,89	1,74	2,65	0,81	0,72	1,12	2,21	0,70	-
	± sd	0,57	1,14	0,44	-	1,18	0,78	0,78	0,21	0,42	1,63	0,03	0,30	0,43	0,13	0,42	0,41	-
λ-Cialo	máx	0,27	0,50	0,50		0,41	6,09	5,05	0,25	0,25			0,25		0,58	0,42	0,56	
	media	0,26	0,46	-	BRL	0,34	2,35	2,78	0,23	0,24	nd	nd	0,24	BRL	0,51	0,35	0,39	BRL
	± sd	0,01	0,06	-		0,11	3,24	1,09	0,03	0,01			0,01		0,09	0,10	0,24	
Ciper	máx	0,35			0,42	1,11	8,32	2,68	0,42	0,47		4,16	0,48	0,34	0,37	1,85		0,78
	media	0,30	nd	nd	-	0,62	3,36	1,51	0,34	0,39	nd	-	0,30	0,30	0,31	1,02	BRL	-
	± sd	0,07			-	0,69	3,48	1,66	0,12	0,11		-	0,25	0,07	0,08	1,17		-
Endo	máx		1,42				0,88	2,12	0,33	0,25	0,45	1,95			1,99	0,40	0,25	1,05
	media	BRL	1,24	nd	BRL	BRL	0,55	1,01	0,29	0,23	-	1,57	BRL	BRL	1,12	0,29	0,21	-
	± sd		0,25				0,34	0,96	0,06	0,03	-	0,54			1,23	0,15	0,07	-
Endo-Sul	máx	0,76	1,67	0,63	0,46	0,68	1,61	1,33	0,58	0,58	0,44	6,19	0,63		3,69	0,78	0,30	12,03
	media	0,55	1,51	0,54	-	0,44	0,92	0,94	0,42	0,55	0,39	5,59	0,49	BRL	2,64	0,55	0,26	-
	± sd	0,30	0,23	0,12	-	0,34	0,57	0,57	0,23	0,05	0,08	0,86	0,20		1,50	0,33	0,04	-

Clorp: clorpirifos, λ-Cialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Endo: endosulfán, Endo-Sul: endosulfán sulfato, nd: no detectado, BRL: por debajo del límite de cuantificación, 3HQ: 3Horqueta, A2: Luna 2, A3: Luna 3, A4: Luna 4, AN: Las Animas, CA: Cañete, CO1: Contador 1, CO2: Contador 2, GO: Gomez, H0: Horqueta 0, H2: Horqueta 2, H5: Horqueta 5, HB: Río Saladito Grande, HEL: Helves, ING: Los Ingleses, MG: Maguire, S2: Salto 2.

En 2013 y 2014, se amplió sustancialmente la cantidad de agrotóxicos analizados, se incrementó los organoclorados, piretroides y el sinérgico piperonil butóxido (Tabla 3.12). Dentro de los piretroides se detectaron ocasionalmente y en bajas concentraciones bifentrina, flútrina, esfenvalerato, deltametrina y permetrina. Teflutrina fue el único piretroide analizado que no se detectó. Piperonil butóxido (PBO), sinérgico de piretroides, se detectó en el 70% de las muestras y las concentraciones variaron entre 0,98 a 3,31 ng/g peso seco. Diclorodifeniltricloroetano (DDT) se detectó sólo en el sitio Luna 2 en baja concentración (0,29 ng/g peso seco). Su producto de degradación DDE se detectó en Helves (0,28 ng/g peso seco) y el DDD en los arroyos Luna 2, 3 Horqueta y Cañete en concentraciones de 1,2; 4,4 y 7,3 ng/g peso seco respectivamente. Otros agrotóxicos organoclorados prohibidos que se detectaron en el arroyo Luna 2 incluyeron clordano (gamma y alfa) y el epóxido de heptacloro (0,32; 0,33 y 0,23 ng/g peso seco respectivamente). Los organoclorados que se analizaron, pero no se detectaron fueron el lindano, heptacloro, dieldrina, endrina y aldrina.

Tabla 3.12. Concentraciones detectadas de los compuestos adicionales analizados en sedimentos para los muestreos en Arrecifes, 2013-2014.

Concentracion ng/g ps	Arrecifes															
	feb-2013												feb-2014			
	3HQ	AN	CA	CO2	GO	H5	HB	HEL	A4	MG	S2	3HQ	A2	CA	GO	ING
PBO	1,79	3,20	3,18	1,67	1,83	2,18	1,99	2,20	3,31	1,61	1,99	1,99	0,98	2,91	1,32	-
Permetrina	-	-	-	-	0,47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,27
Ciflutrina	-	-	-	-	BRL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Deltametrina	-	-	-	-	BRL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esfenvalerato	-	-	-	-	BRL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bifentrina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,96	-	BRL	-
DDD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,42	1,16	7,26	-	-
DDE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,28
DDT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,29	-	-	-
Alpha Clordano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,33	-	-	-
Gamma Clordano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,32	-	-	-
Epoxido de Heptacloro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,23	-	-	-

- no detectado BRL: por debajo del límite de cuantificación (0,25 ng/g peso seco)

DDT: dicloro difenil tricloroetano

DDD: dicloro difenil dicloroetano

PBO: piperonil butóxido

DDE: dicloro difenil dicloroetileno

Unidades Tóxicas (UT)

En los muestreos realizados en Arrecifes 2013 y 2014, se puede observar que los valores máximos de UT-Totales fueron 0,46 y 0,34 respectivamente (Tabla 3.13). Los piretroides, principalmente lambda-cialotrina, son los que más contribuyen a los valores de UT-totales, seguido por los valores de clorpirifos. Las UT de endosulfán y su producto de degradación, endosulfán sulfato, mayormente resultaron inferiores a 0,003. En este período, ninguna concentración de los agrotóxicos superó la mitad de la dosis letal 50 para *H. curvispina*.

Tabla 3.13. Unidades Tóxicas de los biocidas más utilizados calculados para cada arroyo muestreado en Arrecifes 2013-2014.

Fecha	Sitio	UT Clorp ^a	UT λ-Cialo ^a	UT Ciper ^a	UT Endo ^a	UT Endo-Sul ^b	UT total
feb-2013	3HQ	0,032	nd	0,011	nd	0,010	0,05
	A4	0,037	nd	0,022	nd	0,009	0,07
	AN	0,068	0,156	0,052	nd	0,013	0,29
	CA	0,016	0,123	0,024	nd	0,004	0,17
	CO2	0,030	nd	0,027	nd	nd	0,06
	GO	0,029	nd	0,017	nd	0,007	0,05
	H5	0,038	nd	0,027	nd	0,014	0,08
	HB	0,127	nd	0,064	nd	nd	0,19
	HEL	0,025	0,111	0,011	nd	0,019	0,17
	ING	0,063	0,127	0,069	0,001	0,012	0,27
	MG	0,055	0,397	nd	nd	0,010	0,46
	S2	0,014	nd	0,020	0,002	0,124	0,16
feb-2014	3HQ	0,016	0,081	nd	nd	0,005	0,10
	A2	0,053	0,102	nd	0,002	0,016	0,17
	AN	0,046	0,282	nd	nd	0,010	0,34
	CA	0,014	0,070	0,024	nd	0,005	0,11
	CO2	0,035	0,210	nd	0,003	0,029	0,28
	GO	0,018	0,088	0,014	0,001	0,010	0,13
	H5	0,021	0,102	nd	nd	0,007	0,13
	HB	0,053	nd	nd	nd	nd	0,05
	HEL	0,015	0,101	nd	0,003	0,032	0,15
	ING	0,110	0,193	0,017	0,001	0,011	0,33
	MG	0,028	0,139	nd	nd	0,007	0,17
	S2	NA					

^a:LC₅₀ para *Hyaella curvispina*

^b:LC₅₀ para *Chironomus tentans* (You et al., 2004a)

Clorp: clorpirifos, λ-Cialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Endo: endosulfán, Endo-Sul: endosulfán sulfato. UT total: suma de las UT de todos los agrotóxicos. NA: no analizado. nd: no detectado. 3HQ: 3Horqueta, A2: Luna 2, A4: Luna 4, AN: Las Animas, CA: Cañete, CO2: Contador 2, GO: Gomez, H5: Horqueta 5, HB: Río Saladito Grande, HEL: Helves, ING: Los Ingleses, MG: Maguire, S2: Salto 2.

Ensamble de macroinvertebrados

Los macroinvertebrados identificados corresponden a 64 entidades taxonómicas diferentes (Tabla 3.14). Los ensambles de los arroyos exhibieron diferencias entre ellos, aunque todos registraron una elevada abundancia de la clase Oligochaeta, Gastropoda, Bivalvia y del orden Diptera (Chironomidae), Ephemeroptera (Baetidae y Caenidae) y Odonata (Coenagrionidae). Algunos arroyos se encontraron bien representados por Hirudinea, el anfípodo *Hyaella* y el coleóptero Elmidae.

Tabla 3.14. Abundancia (ind/m²) media de cada taxón colectado durante el período 2011-2014 para cada uno de los arroyos muestreados en Arrecifes.

Filo u Orden	Taxones	(ind/m ²) Arrecifes																
		3HQ	A2	A3	A4	AN	CA	CO1	CO2	GO	H0	H2	H5	HB	HEL	ING	MG	S2
Platyhelminthes		2	1	1	82	0	2	0	2	1	0	1	1	0	1	1	2	6
Oligochaeta		25	75	178	48	7	4	74	27	12	7	14	47	38	28	28	20	50
Hirudinea		10	1	2	1	1	8	31	2	2	10	2	1	0	1	1	0	98
Nematoda		3	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	3	1	1	0	1	41
Nemertea		0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	1	0	0	1	1	6
Mollusca		184	27	127	1	6	194	8	21	31	2	8	60	1	25	53	565	684
Bivalvia		172	11	1	1	1	13	4	1	18	0	0	55	0	13	8	27	28
Gastropoda		12	16	126	0	5	182	4	20	13	2	8	6	1	12	45	538	656
	Ancylidae	0	1	0	0	0	137	0	19	0	0	0	0	0	1	0	3	2
	Gastropoda inid.	12	15	126	0	5	45	4	2	13	2	8	6	1	11	45	535	654
Crustacea		111	2	3	40	5	93	10	7	5	25	16	6	1	68	7	8	4
Amphipoda	Hyalellidae	95	1	2	33	3	92	1	5	4	19	16	1	0	65	6	2	1
Decapoda		0	1	1	0	2	0	0	1	1	6	0	1	0	1	1	6	1
	Aegidae	0	1	1	0	0	0	0	1	1	6	0	1	0	0	0	0	1
	Palaemonidae	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	6	0
Ostracoda		15	0	0	7	0	1	9	1	1	0	0	5	1	2	0	0	1
Acari		3	1	0	1	0	1	0	2	11	0	1	1	1	1	1	0	1
Collembola		0	0	1	8	1	0	0	0	2	1	0	1	1	2	0	1	1
	Entomobryidae	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	1	0	1	0	0	0
	Poduridea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
	Collembola ind.	0	0	1	7	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Insecta																		
Ephemeroptera		963	55	2	740	42	55	1	439	133	35	0	17	14	59	34	38	53
	Baetidae	926	1	0	666	15	40	1	359	112	20	0	2	1	6	10	21	28
	Caenidae	32	52	1	63	14	13	0	76	21	13	0	11	1	52	24	14	20
	Leptohyphidae	1	1	1	11	13	2	0	4	1	2	0	5	11	0	0	1	5
	Ephemeroptera inid.	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
Odonata		23	0	0	54	33	25	3	23	2	0	1	0	16	7	12	3	23
	Calopterygidae	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Coenagrionidae	21	0	0	53	32	8	2	14	1	0	1	0	9	7	9	1	13
	Libellulidae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Anisoptera inid.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Zygoptera inid.	1	0	0	0	0	15	0	9	1	0	0	0	7	0	2	1	11
Heteroptera		1	0	1	4	2	2	1	1	0	0	0	0	1	2	4	0	2
	Belostomatidae	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
	Corixidae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Gerridae	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hebridae	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Helotrephidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Mesoveliidae	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Naucoridae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Notonectidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Pleidae	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Trichoptera		4	0	0	6	0	2	0	10	3	0	0	0	4	1	20	2	5
	Hydropsychidae	3	0	0	5	0	1	0	5	2	0	0	0	1	0	20	2	1
	Hydroptilidae	1	0	0	1	0	1	0	6	1	0	0	0	3	1	0	0	3
	Trichoptera inid.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Lepidoptera		2	0	0	1	2	2	0	6	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	Crambidae	1	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	Noctuidae	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lepidoptera inid.	1	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diptera		81	22	13	115	33	67	132	106	41	50	206	169	168	35	28	39	144
	Ceratopogonidae	1	1	0	1	0	1	0	4	1	16	0	1	1	0	1	1	4
	Chironomidae	78	21	13	105	33	54	130	94	37	35	205	169	165	33	23	37	135
	Culicidae	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Empididae	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1
	Ephydriidae	1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	Muscidae	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Simuliidae	1	0	0	0	0	0	0	5	3	0	0	0	1	0	1	1	1
	Stratiomyidae	0	0	0	8	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	Syrphidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Coleoptera		8	5	1	10	5	11	2	0	31	2	0	12	2	6	18	5	58
Curculionidae		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dytiscidae		1	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Elmidae		4	5	1	0	1	7	0	0	29	0	0	2	1	5	15	5	47
Hexacylloepus		1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	11	0	0	0	0	0
Hydrophilidae		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3
Berossus		0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Deralus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Enochrus		0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Helobata		0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tropisternus		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Noteridae		1	0	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1
Scarabaeidae		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Scirtidae		1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Sphaeriidae		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Abundancia media total		1417	188	327	1109	135	465	262	647	275	133	249	321	247	235	208	685	1176
Riqueza media		30	16	13	31	23	29	16	27	23	13	10	19	21	24	31	22	39

3HQ: 3Horqueta, A2: Luna 2, A3: Luna 3, A4: Luna 4, AN: Las Animas, CA: Cañete, CO1: Contador 1, CO2: Contador 2, GO: Gomez, H0: Horqueta 0, H2: Horqueta 2, H5: Horqueta 5, HB: Río Saladito Grande, HEL: Helves, ING: Los Ingleses, MG: Maguire, S2: Salto 2. inid: inidentificado.

En el análisis CLUSTER realizado con los datos de abundancia (ind/m²) de los macroinvertebrados, se observan agrupamientos relacionados por la fecha de muestreo (Figura 3.2). Los relevamientos realizados en marzo de 2012 se concentraron en el grupo B, los de febrero 2013 en el grupo E y los de febrero 2014 en D. Los arroyos analizados en enero y abril 2012 mostraron un agrupamiento por sitio. El grupo A, está formado por el sitio Contador 1 (CO1) y Horqueta 2 (H2) mientras que el grupo F contiene a Maguire (MG) y Horqueta 0 (H0), que también aparecen agrupados en otros muestreos, en el grupo C.

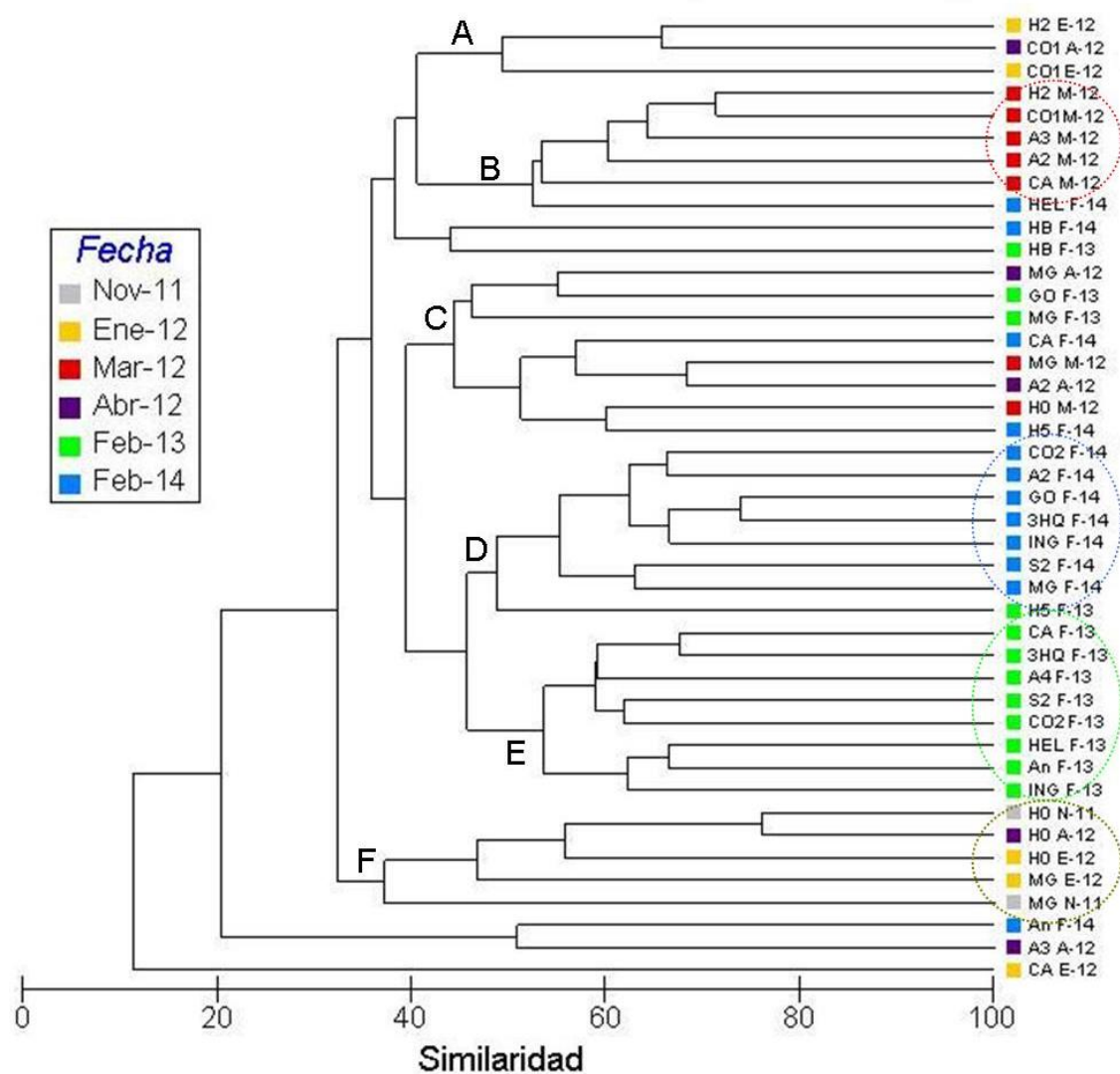


Figura. 3.2. Cluster del ensamble de macroinvertebrados durante el período muestreado 2011-2014 (N-11, E-12, M-12, A-12, F-13 y F-14) para los sitios de Arrecifes (MG: Maguire, ING: Los Ingleses, CA: Cañete, HEL: Helves, 3HQ: 3Horqueta, AN: Las Animas, S2: Salto 2, HB: Río Saladito Grande, CO1: Contador 1, CO2: Contador 2, A2: Luna 2, A3: Luna 3, A4: Luna 4, GO: Gómez, H0: Horqueta 0, H2: Horqueta 2, H5: Horqueta 5).

El análisis ANOSIM realizado para los grupos formados por el CLUSTER, muestra que existen diferencias significativas entre ellos (Global R:0,76; p:0,001). Todos los grupos resultaron significativamente distintos entre sí (Tabla 3.15).

Tabla 3.15. Valores del análisis ANOSIM para los test de a pares que resultaron significativamente distintos. Se informa el R de cada par y el nivel de significancia.

Pares	Estadístico R	Significancia
Grupo A vs. Grupo B	0,69	0,012
Grupo A vs. Grupo C	0,89	0,006
Grupo A vs. Grupo D	0,84	0,006
Grupo A vs. Grupo E	0,99	0,006
Grupo A vs. Grupo F	0,58	0,018
Grupo B vs. Grupo C	0,71	0,001
Grupo B vs. Grupo D	0,75	0,001
Grupo B vs. Grupo E	0,99	0,001
Grupo B vs. Grupo F	0,94	0,002
Grupo C vs. Grupo D	0,58	0,001
Grupo C vs. Grupo E	0,76	0,001
Grupo C vs. Grupo F	0,56	0,002
Grupo D vs. Grupo E	0,72	0,001
Grupo D vs. Grupo F	0,90	0,002
Grupo E vs. Grupo F	0,84	0,002

En el análisis SIMPER se identificaron 22 grupos taxonómicos como principales contribuyentes a la disimilitud entre las fechas de muestreo. Se observa que la contribución de cada uno de los taxones Oligochaeta, Hirudinea, Nematoda, Platyhelminthes, Acari, Bivalvia, Gastropoda (Ancyliidae), Ostracoda, Decapoda (Aegliidae, Paleomonidae), Amphipoda (Hyaellidae), Ephemeroptera (Caenidae, Baetidae, Leptohiphidae), Diptera (Ceratopogonidae, Chironomidae), Odonata (Coenagrionidae y una familia indeterminada del Suborden Zygoptera), Trichoptera (Hydropsychidae) y Coleoptera (Elmidae, Noteridae), difieren entre los distintos grupos. En la Tabla 3.16 se muestran los taxones que contribuyeron aproximadamente en un 70% a la disimilitud entre los grupos.

Los taxones que contribuyeron a la mayor diferencia en la composición del ensamble del grupo A fueron Hirudinea y Chironomidae. Para el grupo B, el principal aporte a la diferencia fueron Oligochaeta, Gastropoda y Bivalvia. La mayor contribución a la disimilitud en el grupo C estuvo dada por los efemeroptera Caenidae y Baetidae y, el coleóptera Elmidae. Los ensambles del grupo D, formado principalmente por los muestreos de febrero 2014, estuvieron representados por Diptera (Chironomidae, Ceratopogonidae), Oligochaeta, Gastropoda, Bivalvia, Hirudinea y

Nematoda. Mientras que el grupo E, relevamientos de febrero 2013, se diferenció por los taxones Baetidae, Caenidae, Coenagrionidae y *Hyaella*. El grupo F, formado por los arroyos Maguire (MG) y Horqueta 0 (H0) con distintas fechas de muestro, se caracterizó por la abundancia de los taxones Crustacea (*Hyaella* y Aeglidae) y Ephemeroptera (Caenidae y Baetidae).

Tabla 3.16. Resultado del análisis SIMPER. Se muestra el promedio de la abundancia relativa porcentual (% Abund.) y el porcentaje de contribución (Contrib. %) de los taxones que aportaron en mayor medida a la disimilitud entre los grupos del CLUSTER.

Taxones	%Abund		%Contrib
% Disimilaridad = 59,4			
	Grupo A	Grupo B	
Chironomidae	5,41	2,05	18,27
Oligochaeta	1,94	4,00	11,89
Hirudinea	3,02	1,06	10,75
Gastropoda	1,08	2,42	9,66
<i>Hyalella</i>	1,78	0,41	8,33
Bivalvia	0,45	1,70	8,22
% Disimilaridad = 72,8			
	Grupo A	Grupo C	
Chironomidae	5,41	2,34	12,82
Hirudinea	3,02	0,14	11,43
Caenidae	0,00	2,12	8,72
Baetidae	0,17	2,15	7,43
Oligochaeta	1,94	1,11	7,42
Elmidae	0,00	1,62	6,61
<i>Hyalella</i>	1,78	0,34	6,10
Gastropoda	1,08	2,43	6,06
% Disimilaridad = 62,5			
	Grupo A	Grupo D	
Caenidae	0,0	3,8	11,9
Gastropoda	1,1	3,8	8,0
Bivalvia	0,5	3,1	7,7
Hirudinea	3,0	1,5	6,7
Oligochaeta	1,9	3,9	6,5
Elmidae	0,0	2,1	6,1
Chironomidae	5,4	4,0	4,5
<i>Hyalella</i>	1,8	1,0	4,4
Ostracoda	1,1	0,6	4,2
Nematoda	0,0	1,4	3,8
Ceratopogonidae	0,0	1,2	3,7
% Disimilaridad = 64,8			
	Grupo A	Grupo E	
Baetidae	0,17	4,83	10,96
Caenidae	0,00	3,27	8,12
Hirudinea	3,02	0,70	5,94
Coenagrionidae	1,10	3,46	5,80
<i>Hyalella</i>	1,78	3,37	5,14
Gastropoda	1,08	2,52	4,37
Oligochaeta	1,94	2,50	3,86
Ostracoda	1,12	1,16	3,72
Leptohyphidae	0,00	1,56	3,63
Bivalvia	0,45	1,86	3,59
Zygoptera	0,00	1,55	3,46
Elmidae	0,00	1,35	3,24
Chironomidae	5,41	4,40	3,19
Ancylidae	0,00	1,46	2,95
% Disimilaridad = 58,2			
	Grupo C	Grupo D	
Oligochaeta	1,11	3,89	10,09
Bivalvia	0,65	3,08	8,12
Gastropoda	2,43	3,80	7,42
Chironomidae	2,34	3,98	7,09
Baetidae	2,15	0,86	6,36
Caenidae	2,12	3,81	6,17
Elmidae	1,62	2,12	5,11
Hirudinea	0,14	1,50	4,40
Nematoda	0,23	1,37	4,13
Ceratopogonidae	0,08	1,21	3,86
Acari	0,19	0,95	3,32
Hydropsychidae	0,25	0,93	3,20
% Disimilaridad = 62,9			
	Grupo C	Grupo E	
Coenagrionidae	0,17	3,46	8,61
<i>Hyalella</i>	0,34	3,37	7,74
Baetidae	2,15	4,83	7,70
Chironomidae	2,34	4,40	5,89
Oligochaeta	1,11	2,50	5,47
Gastropoda	2,43	2,52	4,48
Bivalvia	0,65	1,86	3,87
Caenidae	2,12	3,27	3,67
Zygoptera	0,04	1,55	3,64
Leptohyphidae	0,76	1,56	3,42
Elmidae	1,62	1,35	3,28
Ancylidae	0,17	1,46	3,27
Noteridae	0,00	1,09	2,92
Ostracoda	0,00	1,16	2,75
Platyhelminthes	0,16	1,16	2,51
% Disimilaridad = 63,7			
	Grupo C	Grupo F	
<i>Hyalella</i>	0,34	2,97	12,90
Gastropoda	2,43	0,26	10,81
Baetidae	2,15	1,98	8,57
Chironomidae	2,34	2,76	8,38
Elmidae	1,62	0,10	8,08
Aeglidae	0,45	1,55	6,10
Oligochaeta	1,11	0,52	5,87
Caenidae	2,12	1,76	5,09
Palaemonidae	0,55	0,36	3,75

Taxones	%Abund	%Contrib
% Disimilaridad = 66,6 Grupo A Grupo F		
Chironomidae	5,41	2,76 12,87
Hirudinea	3,02	0,79 11,63
Baetidae	0,17	1,98 8,25
Caenidae	0,00	1,76 7,88
Oligochaeta	1,94	0,52 7,78
<i>Hyalella</i>	1,78	2,97 7,12
Aeglidae	0,00	1,55 6,40
Ostracoda	1,12	0,00 5,43
% Disimilaridad = 64,0 Grupo B Grupo C		
Oligochaeta	4,00	1,11 16,37
Baetidae	0,00	2,15 10,28
Gastropoda	2,42	2,43 9,46
Caenidae	0,52	2,12 9,05
Elmidae	0,23	1,62 8,13
Bivalvia	1,70	0,65 8,01
Chironomidae	2,05	2,34 7,32
% Disimilaridad = 56,3 Grupo B Grupo D		
Caenidae	0,52	3,81 12,71
Gastropoda	2,42	3,80 8,70
Chironomidae	2,05	3,98 7,83
Bivalvia	1,70	3,08 7,38
Elmidae	0,23	2,12 7,03
Ceratopogonidae	0,00	1,21 4,55
Nematoda	0,15	1,37 4,49
Hirudinea	1,06	1,50 4,43
Oligochaeta	4,00	3,89 4,24
<i>Hyalella</i>	0,41	1,01 3,67
Acari	0,12	0,95 3,55
% Disimilaridad = 70,1 Grupo B Grupo E		
Baetidae	0,00	4,83 11,42
Coenagrionidae	0,09	3,46 8,35
<i>Hyalella</i>	0,41	3,37 7,23
Caenidae	0,52	3,27 6,90
Chironomidae	2,05	4,40 5,77
Gastropoda	2,42	2,52 4,75
Bivalvia	1,70	1,86 4,58
Oligochaeta	4,00	2,50 3,96
Leptohyphidae	0,00	1,56 3,63
Zygoptera	0,00	1,55 3,45
Elmidae	0,23	1,35 3,00
Ancylidae	0,09	1,46 2,99
Noteridae	0,00	1,09 2,77
% Disimilaridad = 74,5 Grupo B Grupo F		
Oligochaeta	4,00	0,52 16,48
<i>Hyalella</i>	0,41	2,97 11,98
Gastropoda	2,42	0,26 10,50
Baetidae	0,00	1,98 9,16
Chironomidae	2,05	2,76 7,64
Bivalvia	1,70	0,26 7,49
Aeglidae	0,09	1,55 6,50

Taxones	%Abund	%Contrib
% Disimilaridad = 54,3 Grupo D Grupo E		
Baetidae	0,86	4,83 9,20
Coenagrionidae	0,28	3,46 7,38
<i>Hyalella</i>	1,01	3,37 5,78
Gastropoda	3,80	2,52 5,50
Bivalvia	3,08	1,86 5,22
Elmidae	2,12	1,35 3,93
Oligochaeta	3,89	2,50 3,51
Zygoptera	0,00	1,55 3,31
Leptohyphidae	0,40	1,56 3,29
Ancylidae	0,32	1,46 3,15
Nematoda	1,37	0,11 2,93
Hirudinea	1,50	0,70 2,88
Hydropsychidae	0,93	1,01 2,81
Platyhelminthes	1,09	1,16 2,74
Ostracoda	0,64	1,16 2,63
Chironomidae	3,98	4,40 2,61
Noteridae	0,00	1,09 2,56
% Disimilaridad = 68,3 Grupo D Grupo F		
Oligochaeta	3,89	0,52 10,04
Gastropoda	3,80	0,26 9,79
Bivalvia	3,08	0,26 7,94
Caenidae	3,81	1,76 6,37
<i>Hyalella</i>	1,01	2,97 5,96
Elmidae	2,12	0,10 5,72
Chironomidae	3,98	2,76 5,28
Baetidae	0,86	1,98 5,24
Hirudinea	1,50	0,79 4,45
Ceratopogonidae	1,21	0,88 4,09
Aeglidae	0,28	1,55 3,97
% Disimilaridad = 64,4 Grupo E Grupo F		
Coenagrionidae	3,46	0,10 8,74
Baetidae	4,83	1,98 7,24
Gastropoda	2,52	0,26 5,79
Oligochaeta	2,50	0,52 5,54
Chironomidae	4,40	2,76 4,93
Bivalvia	1,86	0,26 4,20
Caenidae	3,27	1,76 4,11
Aeglidae	0,00	1,55 3,87
<i>Hyalella</i>	3,37	2,97 3,83
Leptohyphidae	1,56	0,22 3,72
Zygoptera	1,55	0,17 3,55
Elmidae	1,35	0,10 3,29
Ancylidae	1,46	0,00 3,08
Noteridae	1,09	0,00 2,91
Turbellaria	1,16	0,47 2,80

Los arroyos Horqueta (H0) y Maguire (MG) muestran características distintivas. El arroyo Horqueta registra abundante vegetación ribereña y ha sido represado, aguas arriba del sitio de muestreo, con fines recreativos en el camping de Capitán Sarmiento. Asimismo, las margenes del arroyo se encuentran densamente forestados aguas arriba de la represa (Figura 3.3 y 3.4).

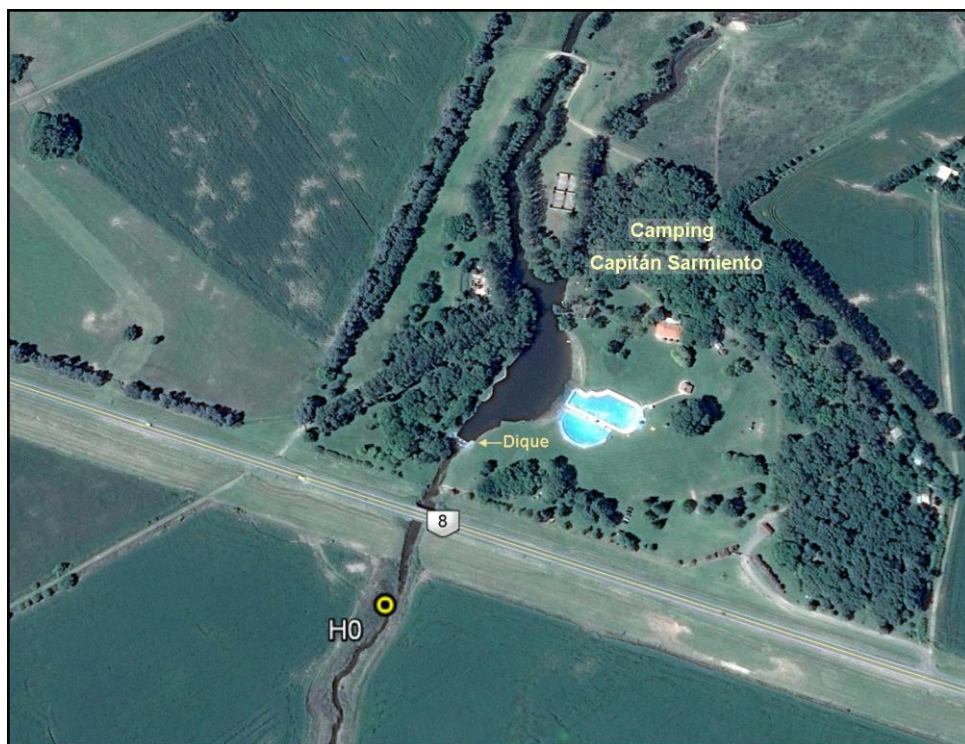


Figura 3.3. Foto satelital del sitio de muestreo en el arroyo Horqueta (H0).

Horqueta presentó comparativamente bajas concentraciones de agrotóxicos y una composición caracterizada por una mayor proporción de taxones sensibles a los mismos, como los crustáceos Aeglidae y Hyalellidae y los efemerópteros Caenidae y Baetidae.

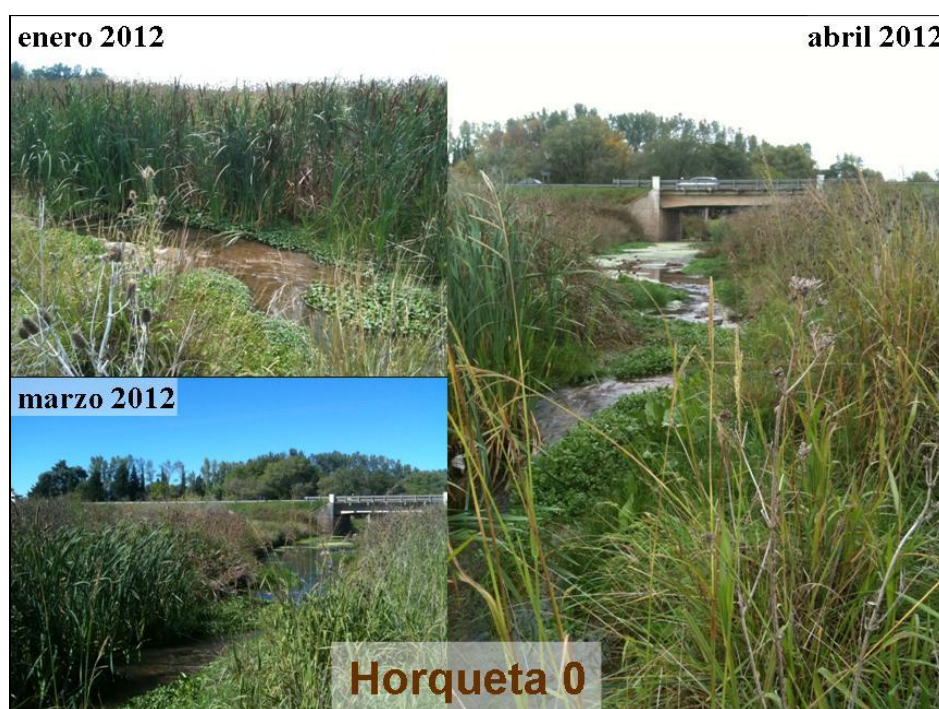


Figura 3.4. Arroyo Horqueta (H0) en enero, marzo y abril de 2012.

El arroyo Maguire es distinto a los demas porque desarrolla un humedal a poca distancia aguas arriba del sitio de muestreo y cuenta con un valle aluvial desarrollado con abundante vegetación (Figura 3.5 y 3.6).



Figura 3.5. Foto satelital del sitio de muestreo en el arroyo Maguire (MG).

El arroyo Maguire mostró también bajas concentraciones de agrotóxicos en varios muestreos de 2011 y 2012, junto a una elevada proporción de taxones consideradas sensibles: Hyalellidae y Paleomonidae (Crustacea); Baetidae y Caenidae (Ephemeroptera) y Elmidae (Coleoptera). No obstante, en los muestreos realizados en febrero 2013 y 2014 Gastropoda fue el grupo taxonómico predominante.



Figura 3.6. Arroyo Maguire (MG) en abril de 2012 y febrero de 2013.

Las características particulares en ambos arroyos, H0 y MG, favorecerían la presencia de taxones sensibles, los cuales contribuyen a las diferencias entre los ensambles detectadas por el análisis SIMPER.

Con la finalidad de poder comparar entre los distintos años de muestreo, se realizó un ANOSIM agrupando los ensambles de los arroyos sólo teniendo en cuenta la fecha de relevamiento. El análisis mostró que existen diferencias significativas entre ellos (Global R:0,44; p:0,001). El ensamble del muestreo de febrero 2013 resultó significativamente distinto de todos los demás; al igual que el realizado en febrero 2014 (Tabla 3.17). El relevamiento de enero 2012 mostró diferencias significativas con el de marzo 2012.

Tabla 3.17. Valores del análisis ANOSIM para los test de a pares que resultaron significativamente distintos. Se informa el R de cada par y el nivel de significancia.

Pares	Estadístico R	Significancia
Ene12 vs. Mar12	0,517	0,004
Feb13 vs. Nov11	0,596	0,022
Feb13 vs. Ene12	0,701	0,001
Feb13 vs. Mar12	0,645	0,001
Feb13 vs. Abr12	0,486	0,001
Feb13 vs. Feb14	0,362	0,001
Feb14 vs. Nov11	0,555	0,044
Feb14 vs. Ene12	0,629	0,003
Feb14 vs. Mar12	0,241	0,020
Feb14 vs. Abr12	0,427	0,010

En el análisis SIMPER se identificaron 20 grupos taxonómicos como principales contribuyentes a la disimilitud entre las fechas de muestreo. Se observa que la contribución de cada uno de los taxones Oligochaeta, Hirudinea, Nematoda, Platyhelminthes, Acari, Bivalvia, Gastropoda, Ostracoda, Decapoda (Aeglididae, Paleomonidae) Amphipoda (Hyalellidae) y los ordenes Ephemeroptera (Caenidae, Baetidae, Leptohyphidae), Diptera (Chironomidae), Odonata (Coenagrionidae y una familia indeterminada del Suborden Zygoptera), Trichoptera (Hydropsychidae) y Coleoptera (Elmidae), difieren entre las distintas fechas de muestreo. En la Tabla 3.18 se muestran los taxones que contribuyeron aproximadamente en un 70% a la disimilitud entre los sitios.

Los taxones que contribuyeron a la mayor diferencia en la composición del ensamble del grupo A fueron Hirudinea y Chironomidae. El principal aporte a la diferencia en la composición del ensamble de los muestreos de febrero 2013 fueron

Chironomidae, Baetidae, Caenidae y Coenagrionidae. La mayor contribución a la disimilitud en los relevamientos de febrero 2014 estuvo dada por Oligochaeta, Gastropoda, Bivalvia y Elmidae. Los taxones que contribuyeron a la mayor diferencia en los ensambles de noviembre 2011 fueron los crustáceos *Hyaella* y Aeglidae; los de enero 2012 por *Hyaella* e Hirudinea y, los muestreos de marzo 2012 Oligochaeta y Gastropoda. Los ensambles de los muestreos de abril 2012 fueron distintos entre ellos, por lo cual no hay taxones que predominen en este grupo.

Tabla 3.18. Resultado del análisis SIMPER. Se muestra el promedio de la abundancia relativa porcentual (% Abund.) y el porcentaje de contribución (Contrib. %) de los taxones que aportaron en mayor medida a la disimilitud entre fechas de muestreo.

Taxones	%Abund		Contrib%	Taxones	%Abund		Contrib%
% Disimilaridad =66,82	feb-13	nov-11		% Disimilaridad =67,54	feb-14	nov-11	
Baetidae	3,77	1,23	8,48	Oligochaeta	3,27	0,87	9,74
Gastropoda	2,45	0,00	7,30	Gastropoda	2,93	0,00	9,60
Coenagrionidae	2,66	0,26	6,81	Hyaella	0,81	2,85	8,49
Hyaella	2,32	2,85	5,96	Caenidae	2,85	1,29	7,18
Chironomidae	4,27	2,93	5,79	Aeglidae	0,26	1,84	5,98
Oligochaeta	2,29	0,87	5,53	Bivalvia	2,14	0,65	5,98
Aeglidae	0,05	1,84	5,05	Elmidae	1,93	0,26	5,79
Leptohyphidae	1,59	0,00	4,65	Chironomidae	2,80	2,93	5,73
Caenidae	2,70	1,29	4,41	Baetidae	0,84	1,23	4,73
Bivalvia	1,81	0,65	4,31	Platyhelminthes	0,91	1,18	3,93
Platyhelminthes	0,77	1,18	3,76	Nematoda	1,20	0,00	3,85
Zygoptera	1,28	0,00	3,37				
Elmidae	1,16	0,26	3,06				
% Disimilaridad =72,97	feb-13	ene-12		% Disimilaridad =74,56	feb-14	ene-12	
Baetidae	3,77	0,85	8,23	Oligochaeta	3,27	0,44	10,13
Chironomidae	4,27	2,87	7,55	Chironomidae	2,80	2,87	8,60
Coenagrionidae	2,66	0,34	6,33	Caenidae	2,85	0,98	8,01
Gastropoda	2,45	0,52	6,19	Gastropoda	2,93	0,52	7,98
Hirudinea	0,47	2,35	6,17	Hirudinea	1,14	2,35	7,86
Oligochaeta	2,29	0,44	5,85	Hyaella	0,81	2,26	6,69
Caenidae	2,70	0,98	5,57	Bivalvia	2,14	0,10	6,30
Hyaella	2,32	2,26	5,43	Elmidae	1,93	0,00	5,92
Bivalvia	1,81	0,10	4,56				
Leptohyphidae	1,59	0,22	4,20				
Ostracoda	0,98	0,67	3,27				
Elmidae	1,16	0,00	3,22				
Zygoptera	1,28	0,17	3,22				
% Disimilaridad =67,60	feb-13	mar-12		% Disimilaridad =57,89	feb-14	mar-12	
Baetidae	3,77	0,43	9,86	Caenidae	2,85	1,20	9,90
Chironomidae	4,27	2,04	7,62	Oligochaeta	3,27	3,35	9,83
Coenagrionidae	2,66	0,07	7,42	Gastropoda	2,93	2,45	8,99
Oligochaeta	2,29	3,35	6,30	Bivalvia	2,14	1,02	8,24
Gastropoda	2,45	2,45	5,91	Elmidae	1,93	0,40	7,44
Hyaella	2,32	0,38	5,75	Chironomidae	2,80	2,04	7,43
Caenidae	2,70	1,20	5,50	Nematoda	1,20	0,00	4,76
Bivalvia	1,81	1,02	5,43	Hirudinea	1,14	0,83	4,72
Leptohyphidae	1,59	0,19	4,65	Baetidae	0,84	0,43	4,44
Zygoptera	1,28	0,00	3,49	Acari	0,86	0,00	3,80
Elmidae	1,16	0,40	3,42				
Ostracoda	0,98	0,00	2,54				
Hirudinea	0,47	0,83	2,39				

Taxones	%Abund		Contrib%	Taxones	%Abund		Contrib%
% Disimilaridad =65,42	feb-13	abr-12		% Disimilaridad =65,88	feb-14	abr-12	
Baetidae	3,77	1,72	8,47	Oligochaeta	3,27	1,06	9,98
Coenagrionidae	2,66	0,32	7,03	Caenidae	2,85	0,95	8,40
Hyalella	2,32	0,90	5,90	Chironomidae	2,80	3,72	8,02
Oligochaeta	2,29	1,06	5,90	Gastropoda	2,93	1,89	7,14
Chironomidae	4,27	3,72	5,89	Bivalvia	2,14	0,27	6,62
Caenidae	2,70	0,95	5,73	Baetidae	0,84	1,72	6,50
Gastropoda	2,45	1,89	5,54	Elmidae	1,93	0,67	6,09
Bivalvia	1,81	0,27	4,73	Hirudinea	1,14	0,90	5,06
Leptohyphidae	1,59	0,42	4,05	Hyalella	0,81	0,90	4,35
Elmidae	1,16	0,67	3,51	Nematoda	1,20	0,00	3,99
Zygoptera	1,28	0,00	3,47	Acari	0,86	0,00	3,17
Hirudinea	0,47	0,90	2,95				
Ostracoda	0,98	0,00	2,53				
Palaemonidae	0,44	0,47	2,44				
Ancylidae	1,02	0,10	2,40				
% Disimilaridad =60,73	feb-13	feb-14		% Disimilaridad =73,71	ene-12	mar-12	
Baetidae	3,77	0,84	8,37	Oligochaeta	0,44	3,35	15,87
Coenagrionidae	2,66	0,19	6,51	Chironomidae	2,87	2,04	12,43
Gastropoda	2,45	2,93	5,99	Gastropoda	0,52	2,45	10,90
Chironomidae	4,27	2,80	5,76	Hirudinea	2,35	0,83	10,65
Oligochaeta	2,29	3,27	5,23	Hyalella	2,26	0,38	10,42
Bivalvia	1,81	2,14	5,10	Caenidae	0,98	1,20	7,38
Hyalella	2,32	0,81	5,09	Baetidae	0,85	0,43	5,52
Caenidae	2,70	2,85	4,87				
Elmidae	1,16	1,93	4,10				
Leptohyphidae	1,59	0,43	3,81				
Zygoptera	1,28	0,00	3,14				
Nematoda	0,08	1,20	2,88				
Platyhelminthes	0,77	0,91	2,59				
Hirudinea	0,47	1,14	2,55				
Ostracoda	0,98	0,36	2,52				
Hydropsychidae	0,77	0,73	2,52				

El muestreo realizado en febrero 2014 fue inmediatamente posterior a un período de lluvias intensas. En los siete días con anterioridad al muestreo las precipitaciones alcanzaron un total de 185 mm. Estas lluvias causaron el desborde del río Arrecifes e inundaciones en varios sectores que debieron ser evacuados. Como consecuencia, se puede observar que aunque las concentraciones de los agrotóxicos fueron bajas, el ensamble de macroinvertebrados es característico de un ambiente disturbado, donde predominan Oligochaeta, Gastropoda, Bivalvia, Hirudinea y Platyhelminthes. En los muestreos de noviembre 2011 las lluvias alcanzaron un máximo de 32 mm dos días antes del muestreo, en enero 2012 llovió 37 mm la semana anterior, en marzo y abril de 2012 precipitaron 25 y 17 mm el día previo, respectivamente y, en febrero 2013 llovieron 45 mm cinco días antes del muestreo (tabla 3.19).

Tabla 3.19. Precipitaciones en milímetros (mm) de Arrecifes y alrededores, para los días previos a los muestreos realizados en noviembre 2011; enero, marzo y abril 2012; febrero 2013 y 2014.

Muestreo	Precipitación (mm)	Días previos
nov-2011	32	2
ene-2012	37	6
	30	7
mar-2012	25	1
	32	3
abr-2012	17	1
feb-2013	5	2
	45	5
feb-2014	6	1
	20	2
	44	4
	63	6
	58	7

Relaciones del ensamble de macroinvertebrados con los agrotóxicos y variables ambientales

En la Tabla 3.20 se observa las relaciones entre los agrotóxicos y la abundancia de los macroinvertebrados (ind/m²). Catorce taxones presentaron correlación negativa con la concentración de uno o más biocidas o sus unidades tóxicas: Platyhelminthes, Nematoda, Bivalvia, Gastropoda (Ancyliidae), Decapoda (Aegliidae, Palaemonidae), Ostracoda, Ephemeroptera (Baetidae y Caenidae), Trichoptera (Hydropsychidae), Coleoptera (Elmidae) y Diptera (Simuliidae). Nueve grupos taxonómicos registraron correlación positiva, ocho de ellos con cipermetrina y uno, Hirudinea, con endosulfán y endosulfán sulfato.

Tabla 3.20. Relaciones entre el ensamble de macroinvertebrados, agrotóxicos y sus respectivas unidades tóxicas (UT) determinados para el período de muestreo 2011-2014 en la región de Arrecifes.

		Clorp	λ-Cialo	Ciper	Endo	Endo-Sul	UT Clorp	UT λ-Cialo	UT Ciper	UT Endo	UT Endo-Sul
Platyhelminthes	r p	*	*	*	*	*	-0,41 0,010	-0,57 0,018	*	*	*
Nematoda	r p	-0,40 0,010	-0,44 0,009	*	*	*	-0,37 0,023	*	*	*	*
Bivalvia	r p	*	*	*	*	*	-0,32 0,049	-0,52 0,033	-0,62 0,005	*	*
Gastropoda	r p	*	*	*	-0,32 0,048	*	*	*	*	*	*
Ancylidae	r p	*	*	*	*	*	-0,38 0,020	*	*	*	*
Aeglidae	r p	*	-0,35 0,039	*	*	*	*	*	*	*	*
Palaemonidae	r p	*	*	*	*	*	*	*	*	-0,53 0,030	*
Ostracoda	r p	*	*	*	*	*	-0,33 0,043	*	-0,57 0,010	*	*
Ephemeroptera	r p	*	*	*	-0,42 0,007	*	*	*	-0,63 0,004	*	*
Baetidae	r p	*	*	*	-0,41 0,009	*	*	*	-0,55 0,015	*	-0,37 0,037
Caenidae	r p	*	*	*	-0,33 0,036	*	*	*	-0,58 0,009	*	*
Hydropsychidae	r p	*	*	*	-0,40 0,011	*	*	*	-0,52 0,023	*	-0,38 0,031
Simuliidae	r p	*	*	*	-0,44 0,005	*	*	*	*	*	-0,36 0,038
Elmidae	r p	*	*	*	-0,32 0,043	*	*	-0,52 0,031	-0,60 0,007	*	*
Hirudinea	r p	*	*	*	0,43 0,006	0,38 0,016	*	*	*	*	*
Coenagrionidae	r p	*	*	0,47 0,002	*	*	*	*	*	*	*
Heteroptera	r p	*	*	0,52 0,000	*	*	*	*	*	*	*
Belostomatidae	r p	*	*	0,41 0,009	*	*	*	*	*	*	*
Corixidae	r p	*	*	0,34 0,034	*	*	*	*	*	*	*
Pleidae	r p	*	*	0,43 0,005	*	*	*	*	*	*	*
Stratiomyidae	r p	*	*	0,35 0,027	*	*	*	*	*	*	*
Dytiscidae	r p	*	*	0,36 0,022	*	*	*	*	*	*	*
Noteridae	r p	*	*	0,45 0,003	*	*	*	*	*	*	*

Clorp: clorpirifos, λ-Cialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Endo: endosulfán, Endo-Sul: endosulfán sulfato,
* : no significativo

Relaciones con las características del hábitat

En la Tabla 3.21 se observa cuatro grupos taxonómicos que se correlacionaron con el contenido de COT en sedimentos, tres de ellos aumentaron su abundancia (Bivalvia, Hirudinea y Platyhelminthes), y uno disminuyó (Decapoda) con el aumento de la materia orgánica. La densidad de los individuos también se correlacionó con la textura del sedimento. La abundancia de Decapoda aumentó al aumentar la proporción de arena, mientras que Lepidoptera y Acari disminuyeron. De forma opuesta, estos dos últimos grupos y la abundancia de Platyhelminthes registraron una correlación positiva con el contenido de arcillas. Odonata y Lepidoptera se correlacionaron positivamente con el aumento de la proporción de limo.

Decapoda y Ephemeroptera se correlacionaron de forma negativa con el PRS, mientras que Odonata, Heteroptera y Diptera se correlacionaron positivamente con la concentración de N-NO_3^- . La abundancia de Coleoptera y Gastropoda se correlacionó negativamente con la concentración de N-NO_2^- y de forma positiva Odonata. La densidad de Acari y Nematoda aumentó con el aumento del N-NH_4^+ .

Tabla 3.21. Coeficiente de correlación entre la abundancia de los grupos taxonómicos y características físicas y químicas del hábitat determinadas para el período de muestreo 2011-2014 en la región de Arrecifes.

		COT	Arena	Limo	Arcilla	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	PRS
Platyhelminthes	r p	0,35 0,027	*	*	0,31 0,048	*	*	*	*
Hirudinea	r p	0,37 0,017	*	*	*	*	*	*	*
Nematoda	r p	*	*	*	*	*	*	0,32 0,042	*
Bivalvia	r p	0,32 0,041	*	*	*	*	*	*	*
Gastropoda	r p	*	*	*	*	-0,36 0,023	*	*	*
Decapoda	r p	-0,32 0,039	0,31 0,049	*	*	*	*	*	-0,34 0,029
Acari	r p	*	-0,37 0,019	*	0,38 0,014	*	*	0,33 0,033	*
Ephemeroptera	r p	*	*	*	*	*	*	*	-0,33 0,038
Odonata	r p	*	*	0,33 0,037	*	0,37 0,019	0,52 0,000	*	*
Heteroptera	r p	*	*	*	*	*	0,56 0,000	*	*
Lepidoptera	r p	*	-0,37 0,019	0,43 0,006	0,35 0,027	*	*	*	*
Diptera	r p	*	*	*	*	*	0,38 0,014	*	*
Coleoptera	r p	*	*	*	*	-0,41 0,009	*	*	*

Nutrientes (N-NO₂⁻: nitrito, N-NO₃⁻: nitrato, N-NH₄⁺: amonio, PRS: fosforo reactivo soluble), COT: carbono orgánico total, * : no significativo

Es importante destacar que la concentración de todos los agrotóxicos se correlacionó positivamente con el contenido de COT en los sedimentos de fondo y, la unidad tóxica total se relacionó positivamente con el porcentaje de arcilla y de forma inversa, con el contenido de arena. La concentración de N-NO₃⁻ se correlacionó de forma positiva con la concentración de lambda-cialotrina y cipermetrina (Tabla 3.22).

Tabla 3.22. Relaciones entre las características físicas y químicas del hábitat y la concentración de los agrotóxicos determinadas para el período de muestreo 2011-2014 en la región de Arrecifes.

	COT	Arena	Arcilla	N-NO₃⁻
Clorpirifos	0,38 0,015	*	*	*
λ-Cialotrina	0,50 0,002	*	*	0,39 0,021
Cipermetrina	0,54 0,000	*	0,37 0,019	0,43 0,006
Endosulfán	0,35 0,029	*	*	*
Endosulfán-Sulfato	0,62 0,000	*	*	*
Agrotóxicos totales	0,59 0,000	*	*	*
UT total	*	-0,34 0,032	0,36 0,022	*

N-NO₃⁻: nitrato, COT: carbono orgánico total * : no significativo

El análisis de redundancia (RDA) utilizando las variables clorpirifos, lambda-cialotrina, cipermetrina, endosulfán, endosulfán sulfato, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺, PRS, COT y el ancho de la franja de atenuación resultó significativo según el test de permutaciones de Monte Carlo. Utilizando estas variables el primer y segundo eje explicaron el 68% de la variación total. En la tabla 3.23 se observan todos los valores obtenidos del análisis de redundancia.

Tabla 3.23. Resumen de los autovalores del RDA y el porcentaje acumulado de la varianza explicada, el porcentaje de la varianza acumulada de los primeros cuatro ejes y el test de Monte Carlo.

Ejes	1	2	3	4
Autovalores	0,17	0,07	0,04	0,03
Correlaciones taxa - ambiente	0,74	0,71	0,68	0,59
Porcentaje acumulado de varianza				
de taxa	17,4	24,7	28,4	31,7
de relación taxa - ambiente	47,8	68,1	78,3	87,4
Test de significancia de Monte Carlo				
1º eje canónico		F: 5,882	p: 0,040	
todos los ejes canónicos		F: 1,451	p: 0,030	

En la figura 3.7 se puede observar muestreos caracterizados por altas concentración de agrotóxicos, PRS y nitritos correspondientes a los meses enero y marzo de 2012 principalmente. El muestreo de febrero 2013 se caracteriza por altas concentraciones de nitratos, COT y endosulfán sulfato; y febrero 2014 altas concentraciones de amonio. Además, se puede observar una tendencia inversa entre los agrotóxicos y la franja de atenuación, donde al aumentar la distancia del cultivo al arroyo parecería disminuir la concentración de los biocidas.

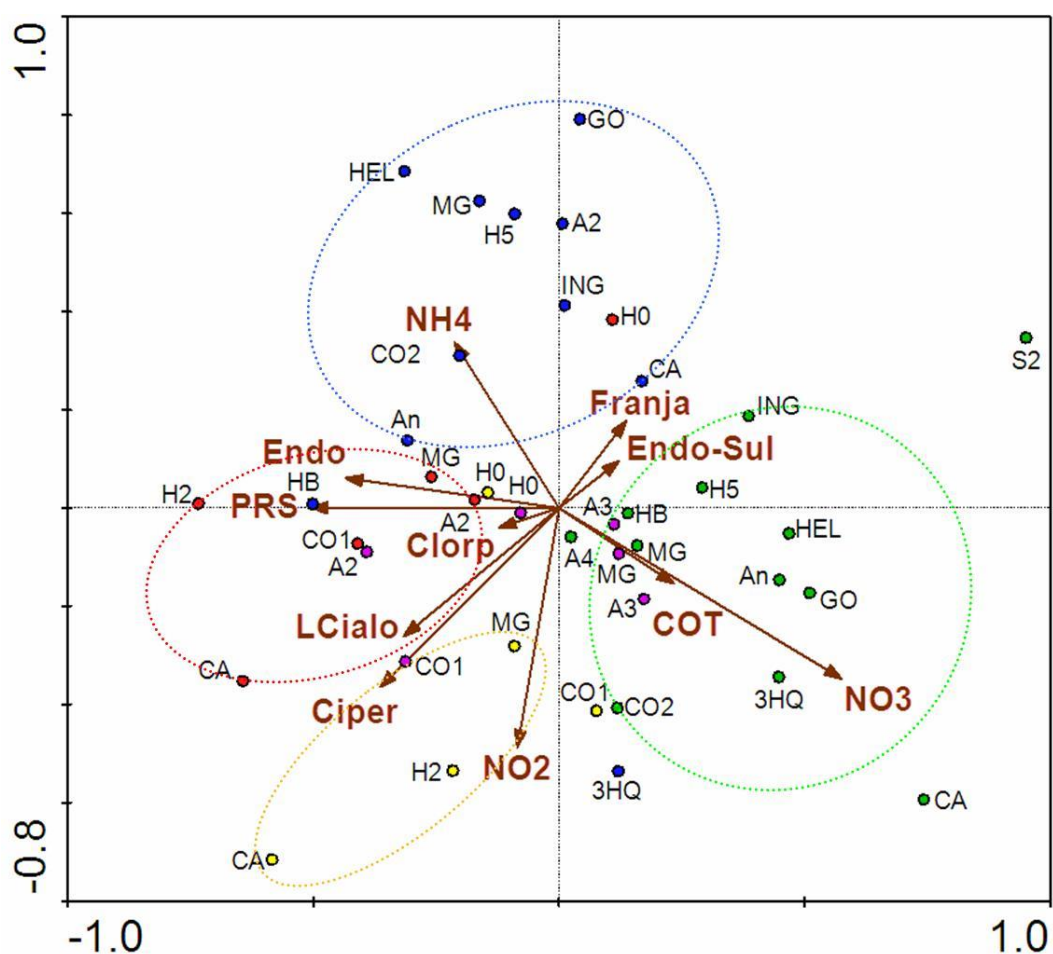


Figura 3.7. Representación del análisis de redundancia (RDA) para los sitios muestreados en el período 2012-2014 de Arrecifes reflejando las relaciones ambientales. Enero 2012 (amarillo), marzo 2012 (rojo), abril 2012 (violeta), febrero 2013 (verde) y febrero 2014 (azul). Clorp: clorpirifos, LCialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Endo: endosulfán, Endo-Sul: endosulfán sulfato, NO2: nitrito, NO3: nitrato, NH4: amonio, PRS: fosforo reactivo soluble, COT: carbono orgánico total, Franja: ancho de la franja de atenuación.

La fig. 3.8 muestra la influencia de los agrotóxicos en la composición taxonómica de los ensambles. La mayoría de los grupos taxonómicos se ubican en los cuadrantes opuestos al sector donde predomina la mayor concentración de biocidas, con la única excepción de Hirudinea. Un grupo importante de taxones muestra relación con la abundancia de materia orgánica (COT) y nitratos (NO_3^-) y; otro grupo, con la magnitud de la franja de atenuación y el producto de degradación del endosulfán (Endo-Sul). Los muestreos caracterizados por mayores concentraciones de NH_4^+ estuvieron dominados por Oligoquetos. El PRS tuvo un comportamiento similar a los agrotóxicos.

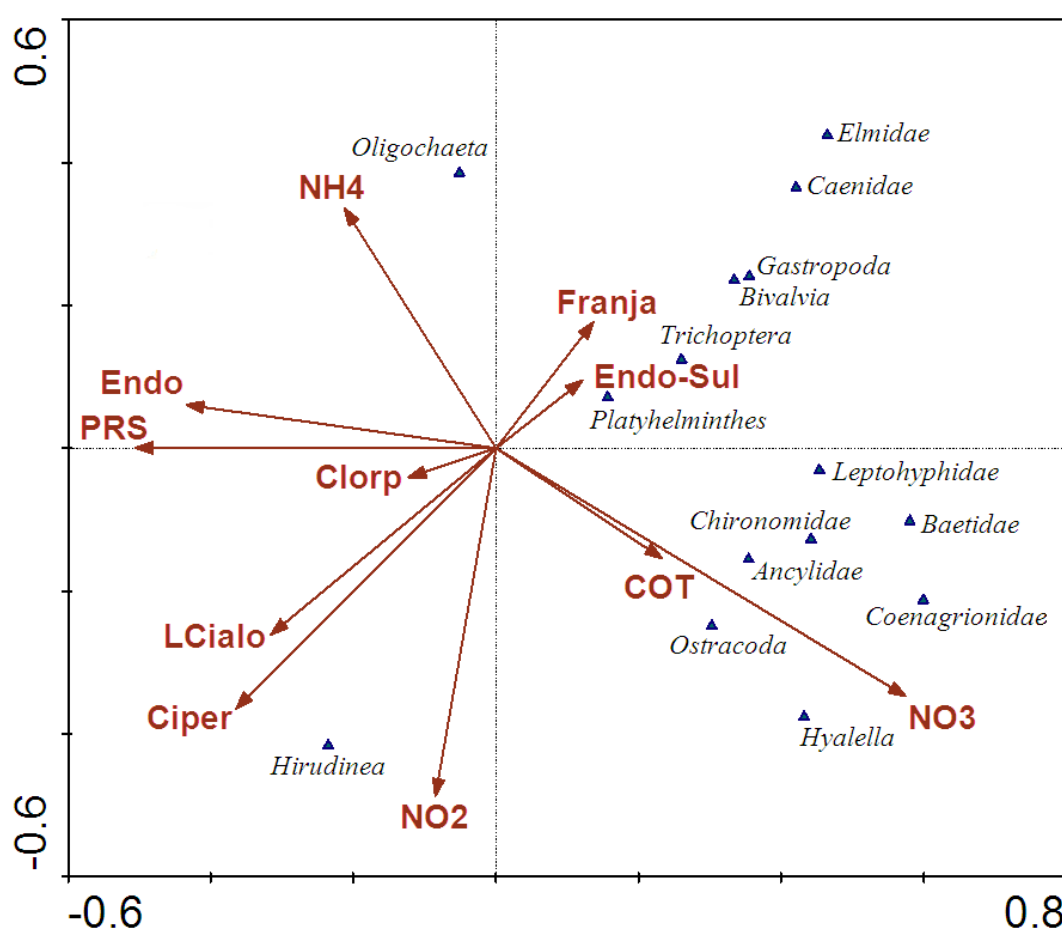


Figura 3.8. Representación del análisis de redundancia (RDA) para los sitios muestreados en el período 2012-2014 de Arrecifes reflejando las asociaciones de invertebrados. Clorp: clorpirifos, LCialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Endo: endosulfán, Endo-Sul: endosulfán sulfato, NO2: nitrito, NO3: nitrato, NH4: amonio, PRS: fosforo reactivo soluble, COT: carbono orgánico total, Franja: ancho de la franja de atenuación.

DISCUSIÓN

En la primera etapa de muestreos se demostró que los ensambles de macroinvertebrados registraron diferencias significativas entre arroyos con distinto uso del suelo en sus cuencas (agrícolas, ganaderos y reserva). Las mayores concentraciones de nutrientes y la presencia de agrotóxicos se registraron en los arroyos de cuencas donde la agricultura fue la actividad dominante. La concentración de PRS fue significativamente mayor en la zona agrícola de La Plata y la concentración de N-NO_3^- lo fue en la zona agrícola de Arrecifes. Estas observaciones son coincidentes con lo informado por otros autores; Mugni *et al.* (2013a) observaron que las concentraciones de PRS determinadas en un arroyo de primer orden de una parcela donde se cultivó trigo, fertilizado con 120 kg/ha de fosfato diamónico, seguido de soja fueron significativamente más altas que en la parcela que se ubicaba aguas abajo con soja sin fertilizar. De igual modo, Gabellone *et al.* (2005) observaron que en la cuenca alta del río Salado donde predomina la agricultura intensiva las concentraciones de nutrientes fueron mayores que en la cuenca baja donde prevalece la actividad ganadera. Solis *et al.* (2016) compararon arroyos de cuencas con distinto uso del suelo en la región Pampeana, Argentina. Las mayores concentraciones de nutrientes y agrotóxicos se determinaron en los sitios agrícolas y de ganadería intensiva. Miller *et al.* (1997), en la cuenca del río Potomac Estados Unidos, registraron las mayores concentraciones de nitratos en aquellos arroyos que drenan cuencas con agricultura, disminuyendo a concentraciones intermedias los que drenan pasturas y las menores en cuencas que drenan bosques. Las concentraciones de nutrientes en los arroyos están relacionadas con el uso del suelo en la cuenca (Omernik 1977). Estudios realizados en Sudamérica indican que las practicas agrícolas se han intensificado y a menudo se extienden hasta los márgenes de los arroyos afectando negativamente la calidad del agua (Ribbe *et al.*, 2008; Hunke *et al.*, 2015). Cooper (1993) ha identificado a la actividad agrícola como unas de los factores que más contribuyen al impacto ambiental, afectando distintos componentes del ecosistema. Los arroyos que drenan cuencas agrícolas se caracterizan por elevados niveles de nutrientes, conductividad y sólidos suspendidos (Stefanidis *et al.*, 2016; Gerth *et al.*, 2017). Los resultados disponibles confirman que el uso del suelo en la cuenca influye en las concentraciones de nutrientes, los cuales aumentan en los arroyos adyacentes a cultivos fertilizados.

Wogram & Liess (2001) elaboraron un ranking basado en la sensibilidad de distintos órdenes de macroinvertebrados en comparación con la tolerancia a la toxicidad de *Daphnia magna*. A partir de la base de datos AQUIRE – USEPA, recopilaron los datos de toxicidad de 211 sustancias y mostraron la tolerancia fisiológica relativa de distintos órdenes. Cada concentración de LC_{50} ó EC_{50} para una determinada especie fue dividida por la concentración correspondiente a *D. magna*. El logaritmo de esta ecuación, calculado para cada especie, se denominó tolerancia fisiológica relativa de esa especie con respecto a *D. magna*. Entre los órdenes más tolerantes se encuentran Hirudinea, Gastropoda y Oligochaeta; mientras que los más sensibles fueron Amphipoda, Ostracoda, Cladóceras y Ephemeroptera. Estos resultados son coincidentes con lo observado en este trabajo de tesis y en otros estudios de bioindicadores (Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001; Ocon *et al.*, 2004). Los taxones considerados tolerantes por Wogram & Liess (2001), caracterizaron los ensambles de los sitios impactados con agrotóxicos, y los sensibles se encontraron en baja densidad o han desaparecido. Los ensambles de los arroyos con uso del suelo ganadero o reserva estuvieron bien representados por estos últimos (Amphipoda, Ephemeroptera).

Liess & Von der Ohe (2005) estudiaron la composición del ensamble de invertebrados acuáticos relacionados con el efecto producido por los agrotóxicos en 20 arroyos de Alemania y estimaron las unidades tóxicas (UT) en *D. magna* en cada muestreo. Los autores observaron que los biocidas causan cambios sobre la composición de la comunidad aun con unidades tóxicas bajas ($UT > 0,01$), equivalentes a 1/100 de la CL_{50} 48 h de *D. magna*. En el presente estudio, se determinaron las UT en *H. curvispina* utilizando las LC_{50} estimadas en el primer capítulo. Los arroyos agrícolas alcanzaron valores de UT total mayores a 0,01 en casi todos los muestreos y, en algunos sitios de Arrecifes (Cañete y Contador 1) alcanzaron valores extremos mayores a 1. Cuando la concentración de biocidas es mayor a la dosis letal se presume que habrá una drástica disminución de taxones por la desaparición de los grupos más sensibles. Los cambios en el uso del suelo tienen consecuencias ecológicas en los ecosistemas acuáticos (Bruno *et al.*, 2014; Lammert & Allan, 1999) y los ensambles de macroinvertebrados son excelentes indicadores de la calidad del agua debido a que poseen distinta tolerancia a la contaminación (Fierro *et al.*, 2012). Cooper (1993) sostiene que los biocidas provenientes de la agricultura al ingresar a los arroyos pueden causar efectos tóxicos agudos sobre los organismos acuáticos. Del mismo modo

sostiene que los efectos subletales o crónicos son menos notorios y pueden producir un importante daño a la biota por períodos de tiempo más prolongados.

Liess & Von der Ohe (2005) clasificaron las especies de invertebrados de arroyos alemanes en dos grandes grupos según su sensibilidad a los biocidas, especies en riesgo ó sensibles (SPEAR = Species at Risk) y especies no en riesgo ó tolerantes (SPEnotAR). En el presente estudio dos familias consideradas sensibles, Palaemonidae y Caenidae, como así también los órdenes a los cuales pertenecen Decapoda y Ephemeroptera respectivamente, registraron una correlación negativa con casi todos los biocidas estudiados. Asimismo, Crustacea registró correlación negativa con la concentración de varios biocidas. Dada la elevada toxicidad de los agrotóxicos se asume que las correlaciones indican una relación causa efecto, la disminución de la abundancia estaría determinada por la toxicidad de los agrotóxicos determinados en mayor concentración. Seis grupos taxonómicos registraron correlación positiva con la concentración de uno o más agrotóxicos. Algunos de los cuales representan organismos considerados tolerantes, Hirudinea, Oligochaeta, Gastropoda (Ancyliidae) y Coleoptera (Curculionidae). Se presume que los grupos tolerantes muestran un incremento de la abundancia con el aumento de la concentración de los biocidas debido a que se ven favorecidos en algunos casos por la desaparición de los más sensibles en términos de menor competencia por el hábitat o bien, por el incremento de la oferta alimentaria por enriquecimiento de nutrientes, los cuales llegan al arroyo junto con los agrotóxicos. Los ancílidos y curculiónidos, generalmente asociados a la vegetación emergente, podrían no verse afectados debido a su hábito, que no se encuentran en contacto con el sedimento. No obstante, debe tenerse en cuenta que la exposición a los biocidas en el momento de la escorrentía siempre es mayor que la determinada en los sedimentos de la muestra. Neumann & Dudgeon (2002) estudiaron tres pequeños arroyos de Hong Kong, China. En cada arroyo muestrearon aguas arriba y aguas abajo de una zona cultivada y compararon los macroinvertebrados bentónicos. Observaron que después de una lluvia intensa que generó una escorrentía proveniente del campo cultivado, los sitios aguas abajo presentaron una disminución significativa del número de taxones sensibles (Ephemeroptera, Trichoptera) y un incremento de taxones tolerantes (Hirudinea, Oligochaeta, Platyhelminthes, Gastropoda). Los estudios previos, muestran coincidencia en cuanto a las consideraciones de los grupos como tolerantes o sensibles con el trabajo desarrollado en la presente tesis, demostrando que los ensambles de macroinvertebrados

de los arroyos relacionados con cuencas agrícolas son distintos de los arroyos de cuencas con otros usos del suelo.

El CLUSTER mostró una agrupación según el uso del suelo en la cuenca, agrícola ganadera y reserva, lo cual concuerda con las diferencias detectadas en las concentraciones de nutrientes. El análisis ANOSIM confirmó que existen diferencias significativas entre los ensambles de los arroyos con distinto uso del suelo. El SIMPER reveló que los taxones que contribuyeron a la disimilitud y resultaron dominantes en los sitios agrícolas fueron Chironomidae, Oligochaeta, Gastropoda y Bivalvia, los cuales son considerados tolerantes (Liess & Von der Ohe, 2005); mientras que Crustacea (Paleomonidae y *Hyaella*), dominantes en la reserva y en los sitios ganaderos son considerados sensibles. Los resultados que se muestran en el presente trabajo son consistentes con los resultados informados por Solis *et al.* (2016). Ellos compararon el ensamble de macroinvertebrados asociados a la vegetación en arroyos de cuencas con distinto uso del suelo y observaron que en los sitios agrícolas y de ganadería intensiva la composición del ensamble de macroinvertebrados era distinta que en las cuencas de ganadería extensiva y en la reserva. Fierro *et al.* (2017) investigaron los efectos del uso del suelo sobre la calidad del agua y los ensambles de macroinvertebrados bentónicos en las regiones de Araucanía y Los Ríos de Chile. En los sitios con cuencas agrícolas y de plantaciones forestales exóticas observaron que la diversidad de los macroinvertebrados fue la más baja, con una menor abundancia de insectos en los ensambles. Contrariamente, los sitios de muestreo en áreas de influencia de bosques prístinos tuvieron la mayor diversidad de macroinvertebrados y especies consideradas sensibles. Estos resultados son similares a los informados en otros estudios (Miserendino & Masi, 2010; Egler *et al.*, 2012; Fierro *et al.*, 2015; Gerth *et al.*, 2017) que indican que la fauna de macroinvertebrados se relaciona con el uso del suelo. En el presente trabajo de tesis, en los sitios menos disturbados la dominancia correspondió al anfípodo *H. curvispina*, considerado sensible, mientras que en los disturbados Gastropoda, Oligochaeta e Hirudinea, considerados tolerantes, fueron los taxones mejor representados.

La abundancia de numerosos taxones mostró relación con las características del hábitat. Grupos taxonómicos como Hirudinea, Platyhelminthes, Hydrophilidae (Coleoptera) y Aeshnidae (Odonata) se correlacionaron positivamente con el porcentaje de COT. Estudios sobre la calidad del agua, registran que Hirudinea es moderadamente

tolerante o tolerante al enriquecimiento orgánico y la contaminación (Pizzolón & Miserendino, 2001). La mayoría de los Platyhelminthes se caracterizan por vivir en aguas bien oxigenadas, pero muchas especies pueden resistir altos grados de contaminación orgánica (Roldán Pérez & Ramírez Restrepo, 2008). Pérez & Roldán (1978) reportaron una gran abundancia de Platyhelminthes en un río de Antioquia, Colombia, en zonas de alta contaminación orgánica. La mayoría de los adultos de la familia Hydrophilidae, son organismos omnívoros y consumidores primarios de materia orgánica, se alimentan de tejido vegetal y/o animal en descomposición (Spangler, 1982; Merritt *et al.*, 2008; Domínguez & Fernández, 2009; Cruz Miranda *et al.*, 2015). Por el contrario, la abundancia de Decapoda (Aeglidae), Ephemeroptera (Baetidae, Caenidae, Leptohyphidae) y Elmidae disminuyó con el aumento del COT. En ambientes bien oxigenados y con bajo contenido de materia orgánica se espera encontrar poblaciones de Ephemeroptera y Crustacea (Roldán Pérez, 1999). Elmidae es una familia de coleópteros frecuente en ambientes lóticos, sensible al déficit de oxígeno y al incremento de la carga orgánica residual (González-Córdoba *et al.*, 2015). El contenido de materia orgánica se correlacionó con la concentración de los biocidas cipermetrina, clorpirifos, endosulfán, endosulfán sulfato y lambda-cialotrina (Tabla 3.22). Algunos de los taxones que registraron correlación positiva con el contenido de COT corresponden a grupos considerados tolerantes a los agrotóxicos mientras que los que registraron correlaciones negativas resultaron mayoritariamente grupos sensibles, sugiriendo que el efecto de la materia orgánica estaría también relacionado con la interacción con los agrotóxicos.

Varios taxones se correlacionaron positivamente con la riqueza de la vegetación acuática. Los nutrientes fósforo y nitrógeno son esenciales para la biota. La vegetación acuática absorbe estos compuestos tanto de la columna de agua como del sedimento y, a mayor disponibilidad, mayor producción primaria y biomasa vegetal. En principio, este aumento en la biomasa permitiría un mayor recurso alimentario para los niveles tróficos siguientes como así también de un sustrato y refugio para muchos invertebrados. Ferreiro *et al.* (2014) llevaron a cabo experimentos de colonización de macrófitas y observaron que la complejidad de las mismas se asociaba con una mayor abundancia y riqueza de macroinvertebrados. Duggan *et al.* (2001), consideran que el tipo de vegetación, arquitectura y forma de crecimiento determina la distribución de macroinvertebrados. En este contexto, no sorprende la correlación positiva entre la

abundancia de algunos grupos taxonómicos con la cantidad de vegetación y concentración de nitratos.

Por el contrario, resultó inesperado que varios taxones registraran correlación negativa con la concentración de PRS. El PRS no tiene efecto tóxico sobre la fauna. En experimentos de enriquecimiento con nutrientes en un arroyo Pampeano, Armendariz *et al.* (2012) observaron un aumento en la abundancia y biomasa de oligoquetos tanto en los sedimentos como en la vegetación, especialmente las subfamilias Naidinae y Pristininae durante la fase de reproducción asexual. También se observó un aumento de algas y bacterias asociadas al sedimento, por lo que se interpretó el aumento de oligoquetos como resultado del incremento de la oferta alimentaria. En un trabajo posterior Cortelezzi *et al.* (2015) registraron que de todos los macroinvertebrados estudiados sólo dos taxones tuvieron diferencias significativas en su abundancia después de la fertilización: *Corbicula fluminea* y ostrácodos. Los ambientes pampeanos presentan elevadas concentraciones basales de PRS por la riqueza del material loessico originario (Quirós & Drago, 1999; Mugni, 2009). En el presente estudio la correlación negativa entre el PRS y la abundancia de algunos taxones no estaría indicando una relación causa-efecto, más bien parece sugerir la ocurrencia simultánea de mayores concentraciones de PRS con la presencia de altas concentraciones de agrotóxicos. En efecto, el PRS registró correlación positiva con la concentración de clorpirifos, agrotóxicos totales y las respectivas UT. En el arroyo de la reserva, el PRS resultó menor que en los sitios de zonas agrícolas. Los fertilizantes se aplican con la siembra, pero si en ese momento se observa la presencia de plagas, se hacen aplicaciones simultáneas con agrotóxicos. Ambos se incorporan a los arroyos con las lluvias posteriores a la aplicación, en coincidencia con episodios de escurrimiento superficial (Mugni *et al.*, 2013a). La mayoría de los agrotóxicos utilizados en nuestro medio son fuertemente hidrofóbicos y se asocian a la materia orgánica del suelo. El fósforo aplicado como fertilizante, generalmente en la forma de superfosfato, se asocia a los coloides de hierro y aluminio en el suelo y es arrastrado a los arroyos también por los eventos de escorrentía superficial, principalmente en la fracción particulada. La concentración de PRS en el agua se correlacionó positivamente con el contenido de COT y arcilla y negativamente con el contenido de arena en los sedimentos. Los taxones que se relacionaron negativamente con el PRS son aquellos considerados sensibles a los agrotóxicos: Crustacea (*Hyalella*, *Palaemonidae*), Diptera

(Stratiomyidae), Ephemeroptera (Baetidae, Caenidae) y sólo Oligochaeta, clasificado como tolerante por Liess & Von der Ohe (2005), se correlacionó de forma positiva. La concentración de PRS resultó un indicador sensible y confiable de impacto agrícola por su utilización en la práctica agrícola y por su comportamiento ambiental similar al de los pesticidas aun cuando sea un nutriente esencial y no presente toxicidad.

El ancho de la franja de atenuación se correlacionó negativamente con la concentración de varios biocidas y con la suma total de los mismos (agrotóxicos totales) y positivamente con la abundancia de algunos taxones sensibles a los agrotóxicos. Esto concuerda con varios estudios (FOCUS 2007, Reichenberger *et al.*, 2007, Schulz *et al.*, 2009) que muestran la efectividad de las franjas de atenuación para mitigar y reducir el riesgo de entrada de biocidas en los ecosistemas acuáticos. Aunque las eficiencias informadas en la reducción de la cantidad de agrotóxicos transportados en la escorrentía variaron mucho según el diseño del estudio, la mayoría informó una eficiencia superior al 60% (Reichenberger *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2010). Generalmente, la efectividad es mayor para los agrotóxicos hidrofóbicos que se transportan adsorbidos a la fracción particulada que para los solubles que se encuentran en fase acuosa. En promedio, la reducción observada de carga de biocidas fue del 50% para un ancho de franja de atenuación de 5 m, 90% para un ancho de 10 m y 97,5% para un ancho de 20 m (Reichenberger *et al.*, 2007). Estas observaciones se tienen en cuenta en el modelo de exposición a escorrentías, EXPOSIT, desarrollado en Alemania en base a la recopilación de estudios sobre la reducción de la contaminación utilizando franjas de atenuación cubiertas de vegetación. Para los biocidas débilmente absorbidos, el modelo asume eficiencias de reducción del 40%, 60% y 80% para un ancho de amortiguación de 5m, 10m y 20m, respectivamente. Para los biocidas altamente absorbidos, se asumen eficiencias del 40%, 85% y 95%, respectivamente (Bereswill *et al.*, 2014). Borin *et al.* (2010) presentaron un análisis de las diferentes funciones de las zonas buffer y revisaron los datos de investigaciones realizados durante la última década en la región de Veneto, Italia. Entre otras cosas, demostraron que la franja de atenuación es una barrera útil para los herbicidas y, disminuye las concentraciones en un 60% a 90%, dependiendo de la sustancia química y el tiempo transcurrido desde la aplicación. Aguiar *et al.* (2015), investigaron la capacidad de la vegetación ribereña como zona buffer para retener los agrotóxicos, en 27 sitios sobre la cuenca del río Cará-Cará (Paraná, Brasil). Los sitios de muestreo presentaban franjas con diferente estructura

vegetal (leñosa, árboles de 15-20m; arbustiva, plantas de hasta 3m y pastura) y distinto ancho (12, 36 y 60m). Analizaron tres herbicidas (Atrazina, Fluazifop-p-butyl, Lactofen) y dos insecticidas (Lambda-cialotrina y Clorpirifos) y observaron que la efectividad del filtrado fue influenciada en gran medida por el ancho y el tipo de vegetación de la zona buffer. En general, la disminución de los agrotóxicos siguió en este orden árboles > arbustos > pastura. La zona de amortiguamiento forestal de 60m fue la más eficaz en la eliminación de todos los biocidas. La pérdida de las márgenes con vegetación natural y zonas de ribera acelera los efectos de la contaminación y deben ser tenidos en cuenta a la hora de evaluar el daño en la vida acuática. La protección de estos hábitats es una manera simple y efectiva de conservar la diversidad biológica.

En el primer período de muestreos (2011-2012) se mostró que los ensambles de invertebrados en arroyos de cuencas agrícolas son distintos a los de zonas ganaderas y de reserva y, que la aplicación de agroquímicos en los cultivos contribuye a la diferencia. En el segundo período se concentró el esfuerzo de muestreo en los arroyos de la zona considerada como núcleo de mayor intensidad agrícola del país (Pengue, 2000) con el objeto de profundizar la comprensión del efecto de la práctica agrícola en los ensambles.

Considerando sólo los arroyos agrícolas de Arrecifes-Pergamino se confirman varias de las observaciones llevadas a cabo cuando se compararon los distintos usos del suelo. Fundamentalmente se observaron correlaciones entre algunos grupos taxonómicos y la concentración de biocidas, y la correlación entre grupos taxonómicos y algunas variables ambientales como la cantidad de materia orgánica o composición granulométrica del sedimento. El conjunto de arroyos de la zona en la región comprendida entre Capitán Sarmiento, Pergamino y Salto representan un grupo ambientalmente homogéneo, todos reciben impacto y todos registran la presencia de agrotóxicos en los sedimentos. Considerando sólo este grupo, en todo el período de muestreo, surge que la variabilidad temporal es mayor que la espacial. La aplicación de agrotóxicos no se repite de igual forma año tras año, se aplican distintos pesticidas en función de las plagas observadas en los cultivos. Los biocidas ingresan a los arroyos en coincidencia con las primeras lluvias posteriores a la aplicación (Mugni *et al.*, 2013a). El efecto en los ensambles resultará de pulsos que producen toxicidad diferencial en los grupos que componen los ensambles, que a su vez varían en años sucesivos por la variabilidad climática. Por este motivo, si bien los resultados del segundo período

confirman los del primero, mostrando correlaciones entre la abundancia de diferentes taxones y la concentración de agrotóxicos; el efecto de un pulso de toxicidad sobre la composición de los ensambles de macroinvertebrados que varían entre años sucesivos no repite los mismos resultados.

El análisis de RDA muestra que los relevamientos realizados en 2012 se segregan del resto, en el cuadrante caracterizado por la mayor concentración de agrotóxicos y PRS (Figura 3.7). Además, se puede observar, que esta mayor concentración tiene una influencia determinante sobre la composición de los ensambles. Hirudinea, es el único grupo presente, considerado tolerante a los biocidas, que se relaciona positivamente con este entorno; mientras que todos los demás taxones se sitúan en los cuadrantes opuestos (Figura 3.8). Los muestreos realizados en febrero 2013 y febrero 2014, que son los grupos mejor definidos en el análisis CLUSTER, aparecen como dos nubes de puntos claramente segregados en el RDA; asociados a bajas concentraciones de biocidas. Se observa que dos características ambientales parecen influir, el contenido de materia orgánica y la franja de atenuación entre el cultivo y el arroyo. Ambos tienden a amortiguar el efecto de la exposición a los agrotóxicos. La franja de atenuación actúa interceptando y reteniendo los agroquímicos, y por tal motivo disminuyendo la cantidad de biocidas que ingresa a los arroyos. La materia orgánica representa un recurso alimentario para muchos grupos y un factor adverso para otros, registrándose tanto correlaciones negativas como positivas con distintos grupos taxonómicos. Una causa que podría producir el efecto negativo sería que, la acumulación de materia orgánica puede generar déficit de oxígeno intersticial en los sedimentos afectando selectivamente a diferentes taxones. Además, el contenido de COT tiene interacción con los agrotóxicos y, esta relación tiene efectos contrapuestos. Los biocidas más utilizados en nuestro medio son hidrofóbicos y se asocian a la materia orgánica, ya sea en el suelo o en el sedimento de los ambientes acuáticos; por lo cual hay correlación positiva entre el COT y la concentración de los agrotóxicos. Sustratos que poseen abundante materia orgánica representan un ambiente de mayor exposición para los organismos asociados al sedimento. Sin embargo, también existe el efecto contrapuesto, la materia orgánica adsorbe y acompleja los agrotóxicos disminuyendo su biodisponibilidad y, por consiguiente, la toxicidad de los mismos. El resultado neto resulta difícil de predecir. Los taxones que registraron correlación positiva con la materia orgánica, Bivalvia, Hirudinea y Platyhelminthes, son considerados tolerantes a los agrotóxicos (Tabla 3.21).

En el presente estudio se observó que algunas características de la cuenca como la presencia de una represa (Horqueta 0) o un humedal (Maguire) tienen influencia en la composición de los ensambles, presumiblemente porque en ambos casos existiría retención de los biocidas en esos ambientes, favoreciendo a las especies sensibles del ensamble. Mugni (2009) determinó que las concentraciones de nitratos en Maguire y Horqueta resultaron significativamente menores que en otros arroyos de la región y lo adjudicó a la asimilación y desnitrificación en los ambientes ribereños de estos arroyos.

La composición de los ensambles resultó significativamente distinta con posterioridad a un período con eventos de lluvias excepcionales. Este tipo de lluvias, representan un estrés para los ensambles debido a que una mayor velocidad de corriente puede arrastrar aguas abajo una fracción variable de la población. En el presente trabajo, se observó que el muestreo de febrero de 2014 resultó bien representado por Chironomidae, Oligochaeta, Gastropoda, Bivalvia, Hirudinea y Nematoda, considerados tolerantes. Al iniciarse un evento de lluvia, el agua percola a través del suelo y, cuando este se satura, comienza el flujo superficial de la escorrentía arrastrando partículas de suelo con los contaminantes asociados. La escorrentía superficial se forma en la región pampeana con una lluvia de aproximadamente 26 mm (Jergentz *et al.*, 2004). Todo evento de escorrentía implica la ocurrencia de un pulso de toxicidad cuya intensidad está asociada al tiempo transcurrido entre la aplicación de agrotóxico en el cultivo y la primer lluvia con posterioridad que posea una intensidad suficiente para producir escorrentía (Mugni *et al.*, 2012, Paracampo *et al.*, 2012). Si la lluvia es excepcionalmente fuerte, puede arrastrar aguas abajo no sólo a los organismos sino también el material transportado por la propia escorrentía y el material previamente depositado en el cauce de los arroyos; de esta forma, puede no detectarse la presencia de agrotóxicos en los sedimentos muestreados en la fecha posterior aun cuando existió el pulso de toxicidad. El efecto combinado del arrastre y la toxicidad resulta en un ensamble más empobrecido como el que se detectó en febrero del 2014. En situaciones donde el arroyo comienza a mostrar signos de contaminación, o por el contrario que comienzan a recuperarse, es común encontrar poblaciones dominantes de Platyhelminthes, Oligochaeta, Hirudinea, Chironomidae y ciertos Mollusca, mezclados en menor proporción con ciertos Ephemeroptera y Trichoptera (Roldán Pérez, 1999). Mugni (2009) estudió la concentración de nutrientes en arroyos de la zona y, observó que, con posterioridad a un período de lluvia excepcional, alcanzando una precipitación

de 228 mm en cinco días, el aumento de nivel de agua en el río Arrecifes creó condiciones que impedían el desagüe de sus tributarios, cesando el flujo momentáneamente. En esa condición, se produjo una drástica disminución del oxígeno disuelto que alcanzó 0,4 mg/l en el arroyo Luna, también muestreado en el presente estudio. La reducción del oxígeno disuelto impide el proceso de nitrificación y aumenta la desnitrificación, compatible con la disminución del nitrato y el aumento de amonio que caracterizó el muestreo de febrero de 2014 en el presente trabajo de tesis.

Los macroinvertebrados acuáticos han adquirido una creciente importancia en el análisis de la calidad del agua, debido a que no sólo revelan las condiciones ambientales actuales, sino que actúan como reveladores de las condiciones en el tiempo (Alba-Tercedor, 1996). Por lo tanto, los ensambles pueden ser usados para evaluar ecosistemas acuáticos y sus respuestas a los cambios en el uso del suelo de las tierras adyacentes. Los ensambles de macroinvertebrados en los arroyos resultan de una combinación de diferentes parámetros ambientales. En los sitios no disturbados, las características del arroyo tales como la morfología (Probst *et al.*, 2005), química (Gibbins *et al.*, 2001) y vegetación ribereña (Potter *et al.*, 2005) determinan la ocurrencia y abundancia de diferentes taxones y, pueden proveer de adecuados indicadores de la composición del ensamble (Clarke *et al.*, 2003). Adicionalmente, estos ensambles pueden verse afectados por compuestos orgánicos y agrotóxicos (Liess & Von der Ohe 2005).

Selva Paranaense (Paraguay y Brasil)

RESULTADOS

Variables ambientales

Los resultados de las determinaciones de nutrientes indicaron que las concentraciones fueron menores al límite de detección del método utilizado (N-NH_4^+ <0,5 ppm, N-NO_3^- <1 ppm, PRS <0,1 ppm) en la mayoría de los sitios en ambas regiones. Cuatro sitios en Brasil (B11, B16, B17 y B23) y cinco en Paraguay (P1, P2, P9, P10, P11) tenían concentraciones de nitratos de 1-2 ppm, y dos sitios en Brasil (B10, B12) tenían concentraciones de PRS entre 0,1-0,2 ppm. Las concentraciones de nutrientes fueron medidas mediante un kit y los valores estimados por rango, resultando generalmente bajas y con poca variabilidad entre los sitios, por lo que no fueron incluidos como variables en los análisis estadísticos.

El análisis estadístico de los parámetros ambientales (ANOVA – test de t ó Mann-Whitney, según corresponda) mostró diferencias significativas entre los arroyos de Brasil y Paraguay. Los arroyos de Brasil registraron mayor porcentaje de Materia Orgánica Particulada Fina (MOPF), Materia Orgánica Particulada Gruesa (MOPG), Carbono Orgánico Total (COT) y porcentaje de limo, y una mayor velocidad de corriente. Los sitios de Paraguay presentaron arroyos más anchos y profundos, con mayor conductividad. Sin embargo, la calificación general de la calidad del hábitat siguiendo el Protocolo Rápido de Bioevaluación (RBP) de la USEPA (Barbour et al. 1999) fue similar (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Las características ambientales de los arroyos estudiados en Brasil y Paraguay (prom: promedio, desv: desvío, máx: máximos y mín: mínimos).

Parámetro		Paraguay ^a	Brasil	Parámetro		Paraguay ^a	Brasil
T (°C)	prom	20,5	20,4	% Arcilla	prom	30	31
	± desv	1,4	1,0		± desv	10	7
	máx	23	23		máx	44	43
	mín	18	19		mín	12	21
Cond **	prom	69	32	% Limo **	prom	6	35
	± desv	22	13		± desv	3	7
	máx	111	60		máx	14	48
	mín	24	14		mín	2	23
pH **	prom	6,7	7,2	% Arena **	prom	64	34
	± desv	0,3	0,3		± desv	10	12
	máx	7,2	7,6		máx	86	55
	mín	6,3	6,7		mín	49	17
OD (mg/l)	prom	8,4	8,4	% Rápidos	prom	28	39
	± desv	0,4	0,2		± desv	16	26
	máx	9,2	8,7		máx	60	90
	mín	7,6	7,9		mín	0	5
Turbidez (NTU)	prom	15	17	% Correderas	prom	66	57
	± desv	7	8		± desv	18	24
	máx	38	31		máx	100	90
	mín	5	3		mín	30	10
% COT **	prom	0,94	2,32	% Pozones	prom	5	4
	± desv	0,62	0,68		± desv	7	4
	máx	2,80	3,24		máx	20	10
	mín	0,22	1,37		mín	0	0
Franja de atenuación (m)	prom	86	66	% Sedimento fino	prom	30	21
	± desv	115	79		± desv	34	19
	máx	500	350		máx	100	70
	mín	1	9		mín	0	0
RBP	prom	154	162	% Lecho rocoso	prom	33	17
	± desv	24	12		± desv	34	18
	máx	182	180		máx	95	50
	mín	79	134		mín	0	0
Velocidad maxima ** (m/s)	prom	0,5	1,8	% MOPF **	prom	2	7
	± desv	0,2	0,5		± desv	1	4
	máx	0,9	2,8		máx	5	20
	mín	0,2	0,8		mín	2	2
Ancho máximo** (m)	prom	5,3	3,7	% MOPG *	prom	6	11
	± desv	1,8	1,4		± desv	3	7
	máx	10	8		máx	10	35
	mín	3	2		mín	2	5
Profundidad máxima** (m)	prom	0,48	0,29	Caudal (m ³ /S)	prom	0,21	0,11
	± desv	0,22	0,16		± desv	0,22	0,12
	máx	1,2	0,7		máx	1,05	0,41
	mín	0,2	0,1		mín	0,01	0,01

T: temperatura, Cond: conductividad, OD: oxígeno disuelto, COT: carbono orgánico total, RBP: calidad del hábitat mediante el protocolo rápido de bioevaluación, MOPF: materia orgánica particulada fina, MOPG: materia orgánica particulada gruesa. ^a Para los parámetros que se midieron en ambos muestreos de Paraguay, se promediaron los valores.

** p<0,001 * p<0,004

Agrotóxicos

En ambas regiones, el insecticida más comúnmente detectado fue clorpirifos, seguido de los piretroides cipermetrina y lambda-cialotrina y, ocasionalmente, endosulfán y endosulfán sulfato (Tabla 4.2). También fueron analizados otros agrotóxicos piretroides y organoclorados (Tabla 4.3).

Clorpirifos tuvo la mayor frecuencia de detección en casi todos los muestreos. Las concentraciones máximas oscilaron entre 1,26 y 1,47 ng/g de peso seco (ps), con la mayor concentración medida en la región de Brasil. En ambas regiones, endosulfán y su producto de degradación, endosulfán sulfato, se detectaron con baja frecuencia y concentración. En Paraguay las concentraciones máximas fueron 0,85 y 0,58 ng/g ps y en Brasil 0,49 y 0,47 ng/g ps respectivamente. Cipermetrina se detectó con frecuencias similares en los tres muestreos y la concentración máxima fue 1,18 ng/g ps en Paraguay y 4,94 ng/g ps en Brasil. Las concentraciones de este piretroide en Brasil resultaron significativamente mayores que las concentraciones detectadas en Paraguay en diciembre 2013 (Kruskal Wallis, Dunn's $p < 0,023$). Asimismo, las concentraciones para lambda-cialotrina resultaron significativamente mayores en los arroyos de Brasil que en los de Paraguay (Kruskal Wallis, Dunn's $p < 0,001$), analizando tanto los datos por región como por fecha de muestreo. Sin embargo, cabe destacar que en el arroyo P16 muestreado en enero 2013, en Paraguay, se detectó la máxima concentración de lambda-cialotrina (16,57 ng/g ps). La concentración de agrotóxicos totales fue significativamente mayor en la región de Brasil (Kruskal Wallis, Dunn's $p < 0,023$).

Tabla 4.2 Concentraciones de los biocidas en sedimentos por muestreos en Paraguay y Brasil, 2013.

Región		Paraguay		Brasil
Fecha		ene-2013	dic-2013	nov-2013
N° de muestras		16	14	18
Clorpirifos	Frecuencia	75%	100%	94%
	Máximo (ng/g)	1,26	1,24	1,47
	Media (ng/g)	0,48	0,66	0,72
	± sd	0,30	0,26	0,31
Endosulfán	Frecuencia	44%	14%	11%
	Máximo (ng/g)	0,85	0,25	0,49
	Media (ng/g)	0,36	0,14	0,15
	± sd	0,21	0,04	0,09
Endosulfán Sulfato	Frecuencia	6%	64%	44%
	Máximo (ng/g)	0,58	0,52	0,47
	Media (ng/g)	0,20	0,24	0,21
	± sd	0,12	0,13	0,12
Cipermetrina	Frecuencia	75%	64%	78%
	Máximo (ng/g)	1,18	0,90	4,94
	Media (ng/g)	0,44	0,26	0,89
	± sd	0,33	0,20	1,20
Lambda-cialotrina	Frecuencia	44%	29%	94%
	Máximo (ng/g)	16,57	0,86	1,32
	Media (ng/g)	1,21	0,23	0,50
	± sd	4,10	0,21	0,29
Agrotóxicos total	Frecuencia	88%	100%	100%
	Máximo (ng/g)	18,10	2,85	7,29
	Media (ng/g)	2,26	1,30	2,26
	± sd	4,30	0,62	1,55

Límite de cuantificación: 0,25 ng/g peso seco.

Método: GC-MS

En las dos regiones también se detectaron ocasionalmente los piretroides: bifentrina, permetrina, ciflutrina, deltametrina y esfenvalerato en concentraciones menores. La presencia de piperonil butóxido (PBO) se determinó frecuentemente, compuesto que se utiliza como sinérgico de los piretroides, con concentraciones máximas de 1,87 a 11,14 ng/g ps. El DDT y sus productos de degradación, DDE y DDD se detectaron en ambas regiones, pero con mayor frecuencia en Brasil (100% de frecuencia de detección de DDT y DDE, con concentraciones máximas de 1,06 y 5,67 ng/g ps, respectivamente). Otros organoclorados prohibidos que se detectaron rara vez, generalmente por debajo del límite de cuantificación, incluyeron endrina, clordano,

aldrin y dieldrin. No se detectó la presencia de los organoclorados, epóxido de heptacloro y lindano (Tabla 4.3).

Tabla 4.3 Concentraciones máximas (máx.) y frecuencia porcentual de detección (%) de los compuestos adicionales analizados en sedimentos para los muestreos en Paraguay y Brasil, 2013.

Región Fecha N° de muestras	Paraguay				Brasil	
	ene-2013		dic-2013		nov-2013	
	8		13		18	
Concentracion ng/g ps	max.	(%)	max.	(%)	max.	(%)
PBO	1,87	(88)	1,23	(8)	11,14	(94)
Bifentrina	0,37	(38)	0,63	(31)	1,44	(44)
Permetrina	2,56	(13)	0,47	(23)	2,07	(33)
Ciflutrina	< 0,25	(13)	0,40	(38)	< 0,25	(11)
Deltametrina	< 0,25	(13)	nd		0,87	(11)
Esfenvalerato	< 0,25	(38)	nd		0,29	(22)
Teflutrina	nd		nd		< 0,25	(22)
DDD	nd		nd		3,97	(33)
DDE	nd		1,88	(15)	5,67	(100)
DDT	nd		0,49	(23)	1,06	(100)
Cetona de Endrina	< 0,25	(13)	nd		0,34	(6)
Endrina	nd		< 0,25	(8)	< 0,25	(17)
Aldrin	nd		nd		0,42	(11)
Dieldrin	nd		nd		< 0,25	(6)
Alpha Clordano	nd		< 0,25	(8)	< 0,25	(6)
Gamma Clordano	nd		nd		nd	
Lindano	nd		nd		nd	
Epoxido de Heptacloro	nd		nd		nd	

nd: no detectado (límite de cuantificación 0,25 ng/g peso seco)

PBO: piperonil butóxido

DDT: dicloro difenil tricloroetano

DDD: dicloro difenil dicloroetano

DDE: dicloro difenil dicloroetileno

Unidades Tóxicas (UT)

En la tabla 4.4 se muestran las unidades toxicas (UT) calculadas para los arroyos de Paraguay y Brasil. Los valores de UT totales calculadas para Paraguay variaron entre 0,02 a 0,81 (excepto el arroyo P16 que presentó un valor de 3,62 en el muestreo de enero 2013) y para Brasil entre 0,01 a 0,36; no evidenciándose diferencias significativas entre ambas regiones. La contribución correspondiente a los piretroides representa 88% y 90% de la toxicidad total en Paraguay y Brasil respectivamente.

Tabla 4.4 Unidades Tóxicas de los Agrotóxicos más utilizados calculados para cada arroyo muestreado en Paraguay y Brasil 2013.

Región	Fecha	Sitio	UT Clorp ^a	UT λ -Cialo ^a	UT Ciper ^a	UT Endo ^a	UT Endo-Sul ^b	UT Piret	UT total
Paraguay	ene-2013	P1	0,051	-	0,018	0,0021	-	0,02	0,07
		P2	0,008	0,052	0,016	0,0004	0,004	0,07	0,08
		P3	0,037	0,127	0,045	0,0033	-	0,17	0,21
		P4	-	0,093	-	-	-	0,09	0,09
		P5	0,015	0,063	0,017	-	-	0,08	0,10
		P6	0,010	-	0,011	0,0016	-	0,01	0,02
		P7	0,034	-	-	-	-	-	0,03
		P9	0,038	0,271	0,129	-	-	0,40	0,44
		P10	0,031	-	0,080	-	-	0,08	0,11
		P11	0,050	0,054	0,042	0,0059	-	0,10	0,15
		P12	0,023	-	0,023	0,0021	-	0,02	0,05
		P13	0,010	-	0,011	-	-	0,01	0,02
		P14	0,015	-	0,016	-	-	0,02	0,03
		P16	-	3,597	0,018	0,0014	-	3,61	3,62
	dic-2013	P1	0,033	0,312	-	-	-	0,31	0,35
		P4	0,016	-	0,016	-	-	0,02	0,03
		P5	0,021	-	0,017	-	-	0,02	0,04
		P6	0,030	-	0,031	-	0,018	0,03	0,08
		P7	0,061	-	-	-	-	-	0,06
		P8	0,061	-	0,049	-	0,011	0,05	0,12
		P9	0,040	0,759	-	-	0,008	0,76	0,81
		P10	0,040	0,276	0,018	-	0,007	0,29	0,34
		P13	0,024	-	0,011	-	0,005	0,01	0,04
		P14	0,037	0,157	0,011	0,0008	0,007	0,17	0,21
		P15	0,027	-	0,017	-	0,005	0,02	0,05
		P16	0,026	-	-	-	0,007	-	0,03
		P17	0,019	-	0,021	0,0004	0,004	0,02	0,04
Brasil	nov-2013	B2	0,016	0,285	0,027	-	0,004	0,31	0,33
		B3	0,006	0,056	0,007	-	-	0,06	0,07
		B7	0,019	0,185	0,153	0,0004	0,006	0,34	0,36
		B10	0,009	0,069	0,019	-	0,002	0,09	0,10
		B11	0,014	0,075	0,015	-	0,004	0,09	0,11
		B12	0,009	0,178	-	-	-	0,18	0,19
		B13	0,009	0,060	0,008	-	-	0,07	0,08
		B14	0,011	0,065	-	-	0,002	0,06	0,08
		B15	0,015	0,063	0,034	-	-	0,10	0,11
		B16	0,021	0,138	0,030	-	-	0,17	0,19
		B17	0,017	0,087	0,007	-	-	0,09	0,11
		B18	0,016	0,117	-	-	-	0,12	0,13
		B19	0,011	0,095	-	-	-	0,09	0,11
		B20	0,008	-	0,005	-	-	0,01	0,01
		B21	0,008	0,069	0,007	-	-	0,08	0,08
		B22	0,007	0,046	0,007	0,0005	0,003	0,05	0,06
		B23	0,002	0,040	0,037	-	0,002	0,08	0,08
		B24	-	0,040	0,011	-	0,001	0,05	0,05

Clorp: clorpirifos, λ -Cialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Endo: endosulfán, Endo-Sul: endosulfán sulfato, Piret: piretroides. ^a:LC₅₀ para *Hyaella curvispina*. ^b:LC₅₀ para *Chironomus tentans* (You et al., 2004a). - : menor al límite de cuantificación (0,25 ng/g ps).

Ensamble de macroinvertebrados

La composición de los ensambles de macroinvertebrados en ambas regiones registró diferencias en la abundancia relativa de ciertos grupos y en la presencia de algunas familias (Figura 4.1, Tabla 4.6 y 4.7).

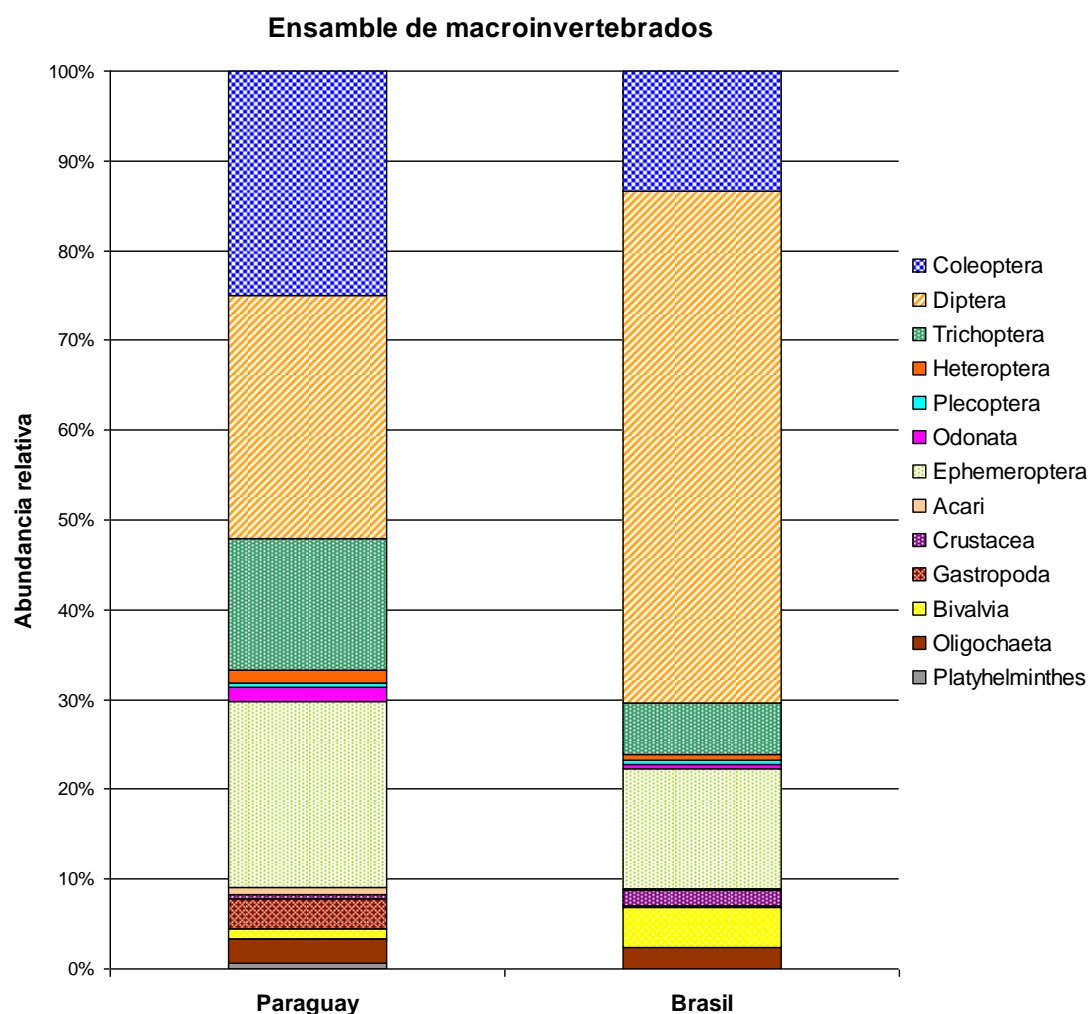


Figura 4.1: Contribución relativa en función de la abundancia de grandes grupos taxonómicos en Brasil y Paraguay.

La riqueza taxonómica fue significativamente mayor en Paraguay (26) que en Brasil (19) (Mann-Whitney $p < 0,001$). De igual manera, el índice de Margalef (Mann-Whitney $p < 0,001$), equitatividad de Pielou (test de t $p < 0,001$), diversidad de Shannon-Wiener (test de t $p < 0,001$) e índice de dominancia de Simpson (Mann-Whitney $p < 0,001$) fueron significativamente mayores para los arroyos de Paraguay (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Promedio de la riqueza taxonómica, índice de Margalef, equitatividad de Pielou, diversidad de Shannon-Wiener e índice de dominancia de Simpson de los muestreos realizados en Paraguay y Brasil.

	Paraguay	Brasil
Riqueza	26	19
Índice de Margalef	5,41	3,98
Equitatividad de Pielou	0,69	0,54
Índice de Shannon-Wiener	0,96	0,70
Índice de Simpson	0,82	0,66

En las muestras de Paraguay se identificaron un total de 67 taxones (Tabla 4.6), mientras que en Brasil sólo 53 taxones (Tabla 4.7). En Paraguay, se determinaron 46 familias de insectos y en Brasil 39. De las familias de insectos identificadas en Paraguay, diez no estaban presentes en Brasil. Mientras que sólo tres familias de insectos determinadas en Brasil no estuvieron presentes en Paraguay. Todas las familias de insectos que se encontraron en una de las regiones, pero no en la otra, tuvieron una baja frecuencia de detección y abundancia relativa menor al 1%. En Paraguay, el único decápodo identificado fue de la familia Trichodactylidae, y en Brasil el único decápodo fue de la familia Aeglidae. No se encontraron ostrácodos en las muestras de Paraguay, pero sí se encontraron en dos arroyos de Brasil, en muy baja abundancia.

En ambas regiones, la familia dominante fue Chironomidae (Diptera), pero la abundancia relativa fue significativamente mayor en Brasil (Mann-Whitney $p < 0,001$). La segunda familia dominante en ambas regiones fue Elmidae (Coleoptera), y en este caso la abundancia relativa fue significativamente mayor en Paraguay (test de t $p < 0,001$). Del orden Ephemeroptera, la familia Leptohyphidae fue la más común en Paraguay; mientras que en Brasil fue la familia Leptophlebiidae. En Paraguay, el orden Trichoptera tuvo la mayor abundancia relativa y presentó más familias que en Brasil. Los plecópteros y Megaloptera fueron raros en ambas regiones.

Tabla 4.6. La abundancia relativa media porcentual de los taxones de macroinvertebrados en los 17 sitios estudiados de Paraguay (inid: inidentificado).

Abundancia relativa media %		Paraguay																
Filo u Orden	taxones	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17
Platyhelminthes		0	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	0	1	1	1	1	0
Oligochaeta		1	1	6	1	1	3	1	2	1	1	1	0	2	2	17	1	2
Hirudinea		0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1
Nematoda		1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1
Nemertea		0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
Mollusca																		
Bivalvia		0	1	1	1	2	1	1	1	0	1	0	0	0	1	8	1	3
Gastropoda		2	3	2	29	9	3	1	2	1	2	2	0	0	1	1	2	2
	Ancylidae	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1
	Gastropoda inid	1	2	1	29	9	2	1	2	1	1	1	0	0	0	1	1	1
Crustacea		1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0
Decapoda	Trichodactylidae	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0
Amphipoda	Hyalellidae	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Acari		1	1	2	1	3	0	1	1	1	1	1	0	1	2	0	1	1
Collembola	Entomobryonidae	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	3	0	0	1	0	0
Insecta																		
Ephemeroptera		22	33	13	18	24	6	22	34	32	37	22	14	12	24	10	26	15
	Baetidae	10	6	3	5	11	1	4	6	8	10	8	9	6	13	3	11	7
	Caenidae	1	0	1	1	1	1	3	1	0	1	1	0	0	1	2	0	1
	Leptohyphidae	9	21	4	11	9	2	13	25	12	24	12	4	4	9	4	15	6
	Leptophlebiidae	2	5	5	1	2	1	2	3	4	2	1	1	1	1	1	1	1
	Ephemeroptera inid	0	1	0	0	1	0	0	0	7	0	0	0	1	0	0	0	0
Odonata		3	3	3	3	3	4	4	2	4	5	5	0	1	2	2	4	3
	Calopterygidae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	Coenagrionidae	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0
	Corduliidae	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
	Gomphidae	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0	1	1	2	1	1
	Megapodagrionidae	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Libellulidae																	
	Libellulidae inid	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	Libellulinae	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
Plecoptera		1	2	2	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
	Gryllopterygidae	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Perlidae	1	1	2	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
Heteroptera		2	1	0	1	2	0	8	3	1	4	2	0	2	3	1	0	0
	Gerridae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Helotrephidae	1	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Naucoridae	1	0	0	1	2	0	1	1	1	4	1	0	1	1	1	0	0
	Pleidae	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Veliidae	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Megaloptera	Corydalidae	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1
Trichoptera		15	25	17	8	12	6	13	12	24	12	19	22	31	26	6	12	16
	Calamoceratidae	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1
	Glossosomatidae	1	2	1	2	1	1	1	6	4	1	1	1	4	1	0	3	3
	Helicopsychidae	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hydrobiosidae	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
	Hydropsychidae	8	19	7	3	5	3	7	1	10	2	10	19	9	2	3	2	12
	Hydroptilidae	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	2	2	0	1	0
	Leptoceridae	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0
	Odontoceridae	1	1	0	0	3	0	1	2	5	2	0	1	0	1	1	1	0
	Philopotamidae	2	1	7	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1
	Polycentropodidae	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	3	0	1	0	0	0	0
	Sericostomatidae	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	16	19	1	1	0

Lepidoptera	Crambidae	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	2	0
Diptera		26	17	34	36	18	56	27	16	15	31	42	27	14	17	32	35	47
	Ceratopogonidae	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1
	Chironomidae	24	12	31	35	12	51	23	15	11	26	34	27	13	15	29	30	40
	Empididae	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1
	Muscidae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Psychodidae	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
	Simuliidae	2	2	1	1	4	1	1	0	2	1	4	0	0	1	1	4	3
	Tabanidae	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tipulidae	0	0	0	0	1	1	0	1	1	2	1	0	1	0	0	0	1
Coleoptera		33	25	26	12	32	29	37	27	31	21	20	31	40	32	22	26	18
	Dryiopidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Hydrophilidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Lutrochidae	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
	Psephenidae	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	0	0	1	1	0	0	0
	Scarabaeidae	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Staphylinidae	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Elmidae																	
	Elmidae inid	17	12	17	3	9	24	6	12	12	11	3	0	14	13	10	9	10
	Cylloepus	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0
	Heterelmis	7	1	3	1	1	0	1	0	1	1	4	3	0	0	1	1	7
	Hexacylloepus	4	2	1	1	2	2	7	6	3	1	1	27	16	7	10	7	0
	Hexanchorus	0	1	0	1	2	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	Macrelmis	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0
	Microcylloepus	2	4	1	1	11	1	1	1	1	1	3	1	4	1	0	2	0
	Neelmis	1	1	2	1	0	1	2	1	1	1	3	0	0	0	0	1	0
	Xenelmis	1	1	1	3	4	1	15	5	8	2	2	0	5	9	1	4	1
Abundancia media		354	627	324	509	209	333	542	348	492	876	846	153	215	440	220	342	702
Riqueza media		37	46	34	34	38	34	45	37	45	46	46	16	24	38	29	38	30

Tabla 4.7. La abundancia relativa porcentual de los taxones de macroinvertebrados en los 18 arroyos estudiados de Brasil.

Abundancia relativa %		Brasil																	
Filo u Orden	taxones	B2	B3	B7	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B24
Platyhelminthes		0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Oligochaeta		3	1	3	1	2	3	2	1	1	5	1	3	3	3	4	3	1	2
Hirudinea		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
Mollusca																			
Bivalvia		2	0	1	1	1	1	25	1	1	0	43	7	0	0	1	1	0	0
Gastropoda		0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0
	Ancylidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Planorbidae	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Crustacea		1	2	1	1	1	1	1	0	1	1	3	3	6	1	5	0	0	8
Decapoda	Aeglidae	1	2	1	1	1	1	0	0	1	1	2	3	4	1	5	0	0	8
Amphipoda	Hyalellidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Ostracoda		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Acari		0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Collembola		1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Insecta																			
Ephemeroptera		11	8	16	25	31	6	2	2	12	7	7	38	30	35	18	0	1	2
	Baetidae	1	1	6	21	30	1	1	2	7	6	4	9	7	8	1	0	0	1
	Caenidae	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	Leptohyphidae	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
	Leptophlebiidae	9	7	10	4	1	6	1	0	4	1	1	27	21	27	17	0	1	1
Odonata		1	1	1	1	1	1	3	1	3	2	2	1	0	1	1	1	0	1
	Calopterygidae	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Gomphidae	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1
	Libellulidae	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0
	Megapodagrionidae	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Plecoptera		3	0	1	2	0	1	0	1	0	0	1	2	3	1	0	1	0	0
	Gryptopterygidae	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Perlidae	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	2	3	1	0	0	0	0
Heteroptera		1	2	0	1	1	1	0	2	0	1	1	0	2	1	2	1	0	2
	Belostomatidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Gerridae	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Helotrephidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Naucoridae	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Veliidae	1	1	0	1	1	0	0	2	0	1	1	0	0	0	1	1	0	2
Megaloptera	Corydalidae	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1
Trichoptera		10	3	10	17	13	4	7	10	3	8	4	2	4	4	5	4	8	4
	Calamoceratidae	2	1	0	1	1	0	2	7	0	1	0	0	1	0	0	0	4	0
	Glossosomatidae	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hydrobiosidae	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hydropsychidae	5	1	8	11	9	2	2	1	1	4	2	2	2	2	5	3	3	4
	Hydroptilidae	1	1	1	1	0	0	1	2	1	1	1	0	0	2	0	0	0	0
	Leptoceridae	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0
	Limnephilidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Odontoceridae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Philopotamidae	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Diptera		57	78	55	50	53	84	51	81	60	73	32	28	34	33	47	75	82	70
	Ceratopogonidae	1	1	1	1	1	1	1	0	4	2	1	0	1	1	1	0	2	1
	Chironomidae	49	71	45	40	39	80	46	76	53	65	28	26	27	20	41	66	62	66
	Empididae	1	2	3	4	2	1	2	2	2	1	1	3	3	2	6	7	1	1
	Muscidae	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Psychodidae	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Simuliidae	4	3	5	3	10	1	1	1	1	1	1	0	1	8	2	2	11	1
	Tabanidae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tipulidae	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	2	0	1	1	0	1
Coleoptera		17	9	17	7	3	5	15	4	25	10	15	17	24	24	20	15	9	13
	Dryopidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
	Dytiscidae	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Elmidae	17	7	13	6	2	5	15	2	25	10	14	17	23	21	15	14	9	11
	Gyrinidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Lutrochidae	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
	Psephenidae	0	1	4	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	3	0	0	1
Abundancia		506	494	469	596	541	494	463	492	475	485	518	421	595	478	475	318	470	479
Riqueza media		22	18	18	26	19	17	22	18	18	23	27	16	20	19	20	15	13	17

Influencia de la franja de atenuación

El análisis de CLUSTER mostró que en Brasil el ancho de la franja de atenuación tiene relación con la concentración de los agrotóxicos totales determinados en los arroyos adyacentes. En la figura 4.2 se puede observar que aquellos sitios que presentan franjas mayores a 50 metros, la concentración de la sumatoria de los agrotóxicos (clorpirifos, cipermetrina, lambda-cialotrina, endosulfán y endosulfán sulfato) fue menor a 1,5 ng/g ps. Mientras que en los sitios con franjas menores a 30 metros presentan concentraciones más elevadas. Por el contrario, no se observó relación entre la franja de atenuación y la concentración de biocidas en los arroyos muestreados de Paraguay, donde la mayoría presentaba franjas de atenuación mayor a 100 metros.

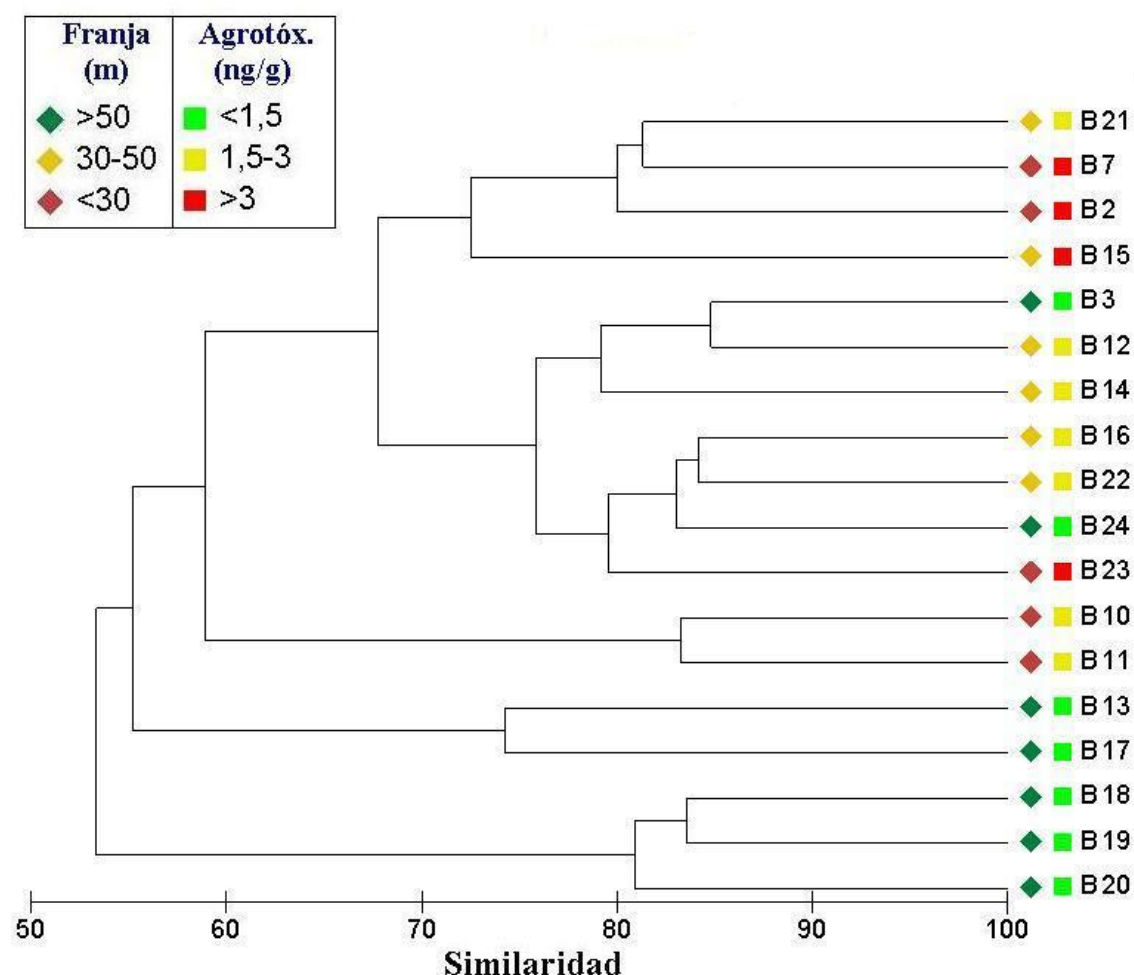


Figura. 4.2. CLUSTER del ensamble de macroinvertebrados para los arroyos de Brasil.

En Brasil, el ancho de la franja de atenuación registró correlación inversa con la concentración de cipermetrina ($r: -0,64$ $p: 0,013$) y agrotóxicos totales ($r: -0,79$ $p<0,0001$) determinados en los sedimentos de los arroyos (Figura 4.3); lo cual ratifica lo observado en el análisis de CLUSTER.

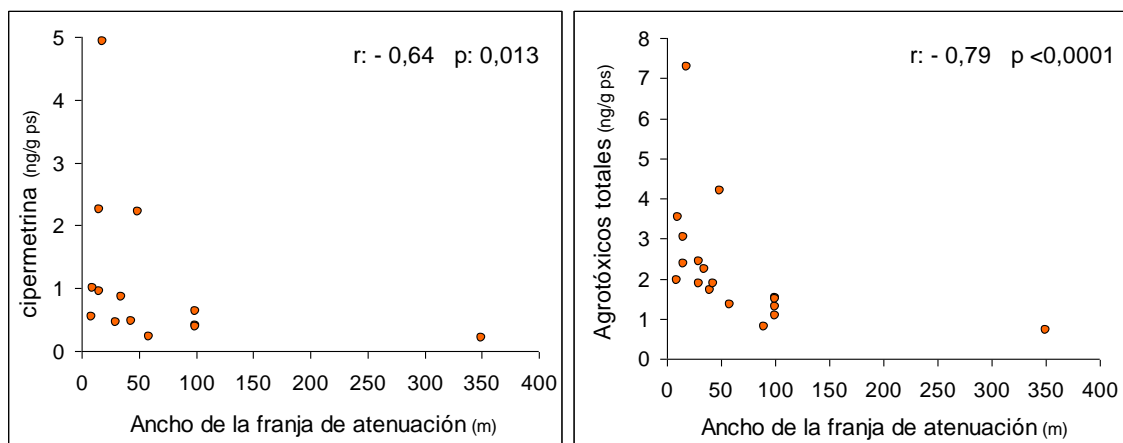


Figura 4.3. Correlación entre la concentración de cipermetrina (ng/g ps) y los agrotóxicos totales (ng/g ps) con el ancho de la franja de atenuación (m) de los arroyos de Brasil.

Relaciones del ensamble de macroinvertebrados con el RBP

En general, la evaluación de la calidad del hábitat, RBP, fue un parámetro importante en Paraguay. El RBP, en Paraguay, se correlacionó significativamente con algunas métricas de respuesta, siempre en la dirección esperada. De manera positiva para las métricas de respuesta consideradas sensibles al disturbio: abundancia relativa y riqueza de Ephemeroptera y Trichoptera, y, porcentaje de Ephemeroptera–Plecoptera–Trichoptera (% EPT). Mientras que la correlación fue de manera inversa para la abundancia relativa de tres taxones considerados tolerantes al disturbio: Hirudinea, Oligochaeta y Bivalvia (Tabla 4.8). Sin embargo, la puntuación del RBP no tuvo un efecto significativo para las métricas Brasil. Los resultados de la evaluación de la calidad del hábitat de ambas regiones se encuentran en la Tabla B2 del anexo.

Tabla 4.8. Relaciones entre el ensamble de macroinvertebrados y el RBP en Paraguay.

RBP						
Ephemeroptera ^(#)	r	0,40		Hirudinea ^(#)	r	-0,66
	p	0,026			p	0,000
Trichoptera ^(#)	r	0,40		Oligochaeta ^(#)	r	-0,62
	p	0,026			p	0,000
% EPT	r	0,57		Bivalvia ^(#)	r	-0,71
	p	0,001			p	0,000
Riq Trichoptera	r	0,49				
	p	0,005				
Riq Plecoptera	r	0,39				
	p	0,029				

%EPT: porcentaje de Ephemeroptera-Plecoptera-Trichoptera, Riq: riqueza, (#): abundancia relativa.

Relaciones del ensamble de macroinvertebrados con los agrotóxicos

En la Tabla 4.9 se presentan las correlaciones entre los agrotóxicos y la abundancia de los macroinvertebrados, utilizando los datos en conjunto de ambas regiones. Se observa que 21 taxones y la riqueza de Ephemeroptera registraron una correlación negativa con la concentración de uno o más agrotóxicos y 10 lo hicieron de manera positiva. Lambda-cialotrina registró correlación negativa con 13 taxones y la riqueza de Ephemeroptera y cipermetrina con ocho.

Tabla 4.9. Correlaciones entre el ensamble de macroinvertebrados y la concentración de agrotóxicos para Brasil y Paraguay.

Grupos Taxonómicos		Clorp	λ-Cialo	Ciper	Agrotóx. T
Nematoda	r p	* 0,028	-0,32 0,028	* 0,037	* 0,037
Ancylidae	r p	* 0,037	* 0,037	-0,31 0,037	* 0,037
Trichodactylidae	r p	* 0,007	-0,39 0,007	* 0,007	* 0,007
Acari	r p	* 0,045	* 0,045	-0,29 0,045	* 0,045
Entomobrydae	r p	* 0,006	-0,39 0,006	* 0,006	* 0,006
Caenidae	r p	* 0,008	-0,38 0,008	* 0,008	* 0,008
Leptohyphidae	r p	* 0,011	-0,37 0,011	-0,33 0,026	-0,31 0,036
Libellulinae	r p	* 0,036	* 0,036	-0,31 0,036	* 0,036
Heteroptera	r p	* 0,041	* 0,041	-0,30 0,041	-0,44 0,002
Helotrephidae	r p	* 0,045	* 0,045	-0,29 0,045	-0,29 0,045
Naucoridae	r p	* 0,005	-0,41 0,005	-0,38 0,008	-0,50 0,000
Glossosomatidae	r p	* 0,047	* 0,047	-0,29 0,047	* 0,047
Odontoceridae	r p	* 0,041	-0,30 0,041	* 0,041	* 0,041
Crambidae	r p	-0,30 0,038	* 0,038	* 0,038	* 0,038
Cylloepus	r p	-0,42 0,004	* 0,004	* 0,004	* 0,004
Heterelmis	r p	* 0,008	-0,39 0,008	* 0,008	* 0,008
Hexacylloepus	r p	-0,40 0,005	-0,50 0,005	* 0,005	* 0,005
Macrelmis	r p	* 0,033	-0,31 0,033	* 0,033	* 0,033
Microcylloepus	r p	* 0,006	-0,40 0,006	* 0,006	* 0,006
Neelmis	r p	-0,31 0,033	-0,36 0,015	* 0,015	* 0,015
Xenelmis	r p	* 0,018	-0,34 0,018	* 0,018	-0,37 0,011
Riq Ephemeroptera	r p	* 0,005	-0,40 0,005	* 0,005	* 0,005

Grupos Taxonómicos		Clorp	λ-Cialo	Ciper	Agrotóx. T
Mollusca	r p	0,31 0,034	* 0,034	* 0,034	* 0,034
Bivalvia	r p	0,45 0,002	* 0,002	* 0,002	* 0,002
Planorbidae	r p	0,34 0,022	0,33 0,022	* 0,022	0,38 0,008
Aeglidae	r p	* 0,000	0,47 0,000	* 0,000	* 0,000
Diptera	r p	* 0,009	0,38 0,009	* 0,009	0,37 0,010
Ceratopogonidae	r p	* 0,008	* 0,008	0,39 0,008	* 0,008
Chironomidae	r p	* 0,009	0,38 0,009	* 0,009	0,35 0,017
Empididae	r p	* 0,001	0,46 0,001	0,36 0,014	0,39 0,008
Simuliidae	r p	* 0,033	* 0,033	0,31 0,033	0,44 0,002
Elmidae	r p	* 0,026	0,33 0,026	* 0,026	* 0,026
Veliidae	r p	* 0,015	0,35 0,015	* 0,015	* 0,015

Clorp: clorpirifos, λ-Cialo: lambda cialotrina, Ciper: cipermetrina, Agrotóx. T: agrotóxicos totales, Riq: riqueza.
*: no significativo

Relaciones con las características del hábitat

En la Tabla 4.10 se muestra la relación entre la abundancia de grandes grupos taxonómicos con las características del hábitat, utilizando los muestreos de Paraguay y Brasil. La concentración de COT, MOPF, MOPG y la fracción de limo en los sedimentos registraron correlación negativa con 11 taxones y positiva con la abundancia de Diptera y Crustacea. La conductividad y el contenido de arena en sedimentos registraron el efecto opuesto, se correlacionaron positivamente con la abundancia de 11

taxones y negativamente con la abundancia de Diptera y Crustacea. Al correlacionar la abundancia relativa de los taxones con el valor de RBP de ambas regiones, se pudo observar que cuando la puntuación es baja, la abundancia de los Platyhelminthes y Oligochaeta aumenta, mientras que cuando la calidad del hábitat es óptima, aumenta la riqueza de los Plecoptera.

Tabla 4.10. Relaciones entre la abundancia de los macroinvertebrados y las características físicas y químicas del hábitat determinadas para Brasil y Paraguay.

Grupos Taxonómicos		Cond	COT	Arena	Limo	Sed fino	L Roc	MOPF	MOPG	RBP
Platyhelminthes	r	0,51	-0,57	0,40	-0,38	*	*	-0,43	*	-0,29
	p	0,000	0,000	0,010	0,014			0,014		0,045
Oligochaeta	r	0,36	-0,40	0,55	-0,45	*	*	-0,42	*	-0,35
	p	0,011	0,009	0,000	0,003			0,015		0,014
Hirudinea	r	*	*	*	*	*	*	*	-0,35	*
	p								0,045	
Nematoda	r	0,51	-0,61	0,40	-0,63	*	*	-0,62	-0,36	*
	p	0,000	0,000	0,009	0,000			0,000	0,040	
Gastropoda	r	0,43	-0,38	0,34	-0,46	*	*	-0,43	*	*
	p	0,002	0,015	0,028	0,002			0,013		
Crustacea	r	-0,46	0,34	-0,50	0,50	*	-0,29	0,45	*	*
	p	0,000	0,030	0,000	0,000		0,043	0,009		
Acari	r	0,56	-0,61	0,60	-0,53	*	0,29	-0,64	-0,53	*
	p	0,000	0,000	0,000	0,000		0,046	0,000	0,002	
Collembola	r	0,34	-0,41	*	*	*	*	*	-0,35	*
	p	0,017	0,007						0,044	
Ephemeroptera	r	*	*	0,44	-0,35	*	*	*	*	*
	p			0,004	0,022					
Trichoptera	r	0,44	-0,49	0,65	-0,55	-0,31	0,37	-0,58	*	*
	p	0,001	0,000	0,000	0,000	0,033	0,010	0,000		
Diptera	r	-0,37	0,49	-0,64	0,54	0,30	-0,33	0,47	0,45	*
	p	0,008	0,001	0,000	0,000	0,034	0,021	0,006	0,010	
Coleoptera	r	0,30	-0,47	0,55	-0,54	*	*	-0,47	-0,50	*
	p	0,036	0,002	0,000	0,000			0,006	0,003	
EPT	r	0,36	-0,40	0,58	-0,46	-0,31	*	*	*	*
	p	0,010	0,008	0,000	0,003	0,029				
Riq Ephemeroptera	r	0,54	-0,57	0,60	-0,64	*	*	-0,47	-0,63	*
	p	0,000	0,000	0,000	0,000			0,006	0,000	
Riq Trichoptera	r	0,47	-0,45	0,51	-0,57	*	*	-0,51	*	*
	p	0,000	0,003	0,000	0,000			0,002		
Riq Plecoptera	r	*	*	*	*	*	*	*	*	0,39
	p									0,005

Cond: conductividad, COT: carbono orgánico total, Sed fino: sedimento fino, L Roc: lecho rocoso, MOPF: materia orgánica particulada fina, MOPG: materia orgánica particulada gruesa, RBP: calidad del hábitat mediante el protocolo rápido de bioevaluación. EPT: porcentaje de Ephemeroptera-Plecoptera-Trichoptera, Riq: riqueza. * no significativo.

A su vez, los parámetros ambientales que registraron correlación con la abundancia de los grupos taxonómicos presentaron correlación con la concentración de algunos agrotóxicos (Tabla 4.11). Los piretroides, cipermetrina y/o lambda-cialotrina se correlacionaron positivamente con el contenido COT, limo, MOPF y MOPG en los sedimentos y, negativamente con el porcentaje de arena y conductividad del agua. Esta misma relación se observó con la concentración de agrotóxicos totales.

Tabla 4.11. Relaciones entre la concentración de agrotóxicos con las características físicas y químicas del hábitat determinadas para Brasil y Paraguay.

Agrotóxicos		Cond	COT	Arena	Limo	Sed fino	MOPF	MOPG
Lambda-Cialotrina	r	-0,39	0,46	-0,38	0,46	*	0,51	0,46
	p	0,007	0,004	0,016	0,003		0,004	0,012
Cipermetrina	r	-0,34	0,55	*	0,39	*	0,40	0,53
	p	0,022	0,000		0,015		0,027	0,003
Agrotóxicos totales	r	-0,32	0,50	*	*	0,32	0,49	0,59
	p	0,030	0,001			0,030	0,007	0,000

Cond: conductividad, COT: carbono orgánico total, Sed fino: sedimento fino, MOPF: materia orgánica particulada fina, MOPG: materia orgánica particulada gruesa. * no significativo.

DISCUSIÓN

En los sedimentos de los arroyos estudiados se detectó la presencia de todos los biocidas utilizados con mayor frecuencia en los cultivos regionales. Los agrotóxicos más frecuentemente determinados coinciden con los detectados en trabajos previos en regiones agrícolas de Brasil, los cuales se han centrado principalmente en el estado de Mato Grosso, región del Pantanal (Possavatz *et al.*, 2014, Casara *et al.*, 2012, Miranda *et al.*, 2008, Laabs *et al.*, 2002). Un estudio realizado en nueve sitios sobre la cuenca del río Cuiabá (Brasil) donde se cultiva principalmente soja, maíz y algodón, informó la presencia de clorpirifos, λ -cialotrina, permetrina, α -endosulfán, endosulfán sulfato y malatión en muestras de sedimento de fondo en concentraciones de hasta dos órdenes de magnitud mayor a las detectadas en el presente estudio (Possavatz *et al.*, 2014). Miranda *et al.* (2008) analizaron 23 agrotóxicos en muestras de sedimentos de 25 sitios en 17 ríos del Pantanal (Mato Grosso, Brasil) y detectaron la presencia de los piretroides λ -cialotrina (1 a 5 ng/g), deltametrina (20 ng/g) y permetrina (1 a 7 ng/g). Otro estudio realizado en la cuenca noreste del Pantanal monitoreó 29 agrotóxicos, de los cuales se detectaron 19. La frecuencia de detección fue de 68% en las muestras de agua

superficial (n=139), y 62% en muestras de sedimento (n=26), siendo endosulfán (α , β), endosulfán sulfato y el herbicida ametrina los compuestos más frecuentes (Laabs *et al.*, 2002).

Al comparar las concentraciones de los agrotóxicos detectados en la Selva Paranaense con los resultados obtenidos en los arroyos de cuenca agrícola de la región pampeana (Argentina) se pudo observar mayores concentraciones en esta última. La máxima concentración del clorpirifos fue 1,3; 1,5; 3,6 y 7,4 ng/g ps en Paraguay, Brasil, Arrecifes y La Plata respectivamente. La concentración de cipermetrina fue máxima en Arrecifes (8,3 ng/g ps), seguida por Brasil (4,9 ng/g ps), La Plata (1,9 ng/g ps) y Paraguay (1,2 ng/g ps). El organoclorado endosulfán y su producto de degradación, endosulfán sulfato, resultaron ser dos a tres órdenes de magnitud mayor en los arroyos pampeanos (endosulfán: 32; 2,1; 0,8; 0,5 ng/g ps y endosulfán sulfato: 156; 12; 0,6; 0,5 ng/g ps en La Plata, Arrecifes, Paraguay y Brasil respectivamente).

El uso del DDT para agricultura está prohibido en Brasil desde 1985, pero su uso como control de vectores se informó hasta 1997 (Dores, 2015). Laabs *et al.* (2002) realizaron un muestreo en arroyos del noreste del Pantanal y determinaron DDT en el 79% de las muestras de sedimentos y su producto de degradación, DDE, en el 36%; con concentraciones máximas de 1,5 y 1,4 ng/g, respectivamente. Estudios más recientes han detectado DDT sólo esporádicamente y DDE ocasionalmente en sedimentos y agua del Pantanal (Dores, 2015). En la presente tesis, en los arroyos de Brasil se detectó DDT y sus productos de degradación, DDD y DDE, con mayor frecuencia y concentraciones más elevadas que las reportadas previamente (1,1; 3,8 y 5,7 ng/g ps respectivamente). En Paraguay la frecuencia de detección y las concentraciones fueron menores (DDT 0,49 ng/g ps y DDE 1,9 ng/g) y en los muestreos realizados en Arrecifes, Argentina, sólo se detectó DDT y DDE en baja concentración (0,29 y 0,28 ng/g ps respectivamente) y DDD en mayor concentración, pero sólo en tres arroyos (1,2; 4,4 y 7,3 ng/g ps).

De los agrotóxicos determinados en el presente estudio, los piretroides presentan la mayor toxicidad para los invertebrados acuáticos, debido a que contribuyen con el mayor porcentaje a la Unidad Tóxica (UT) total, principalmente en los arroyos de Brasil. Resulta frecuente la aplicación simultánea de insecticidas piretroides con el producto sinérgico piperonil butóxido (PBO), cuyo efecto es inhibir las enzimas oxidasa

de función mixta que contribuyen a la detoxificación. PBO tiene baja toxicidad para los organismos acuáticos (Amweg *et al.*, 2006). No obstante, Weston *et al.* (2006) informaron que concentraciones de PBO de 2-4 µg/l en agua casi duplicaron la toxicidad de sedimentos para *H. azteca*. Amweg *et al.* (2006) determinaron que una concentración de PBO de 12,5 ng/g en sedimento y 2,3 µg/l en agua casi duplicó la toxicidad de permetrina para *H. azteca*. Las concentraciones de PBO detectadas en el presente estudio pudieron haber aumentado la toxicidad de los piretroides y, sugieren que el cálculo de la UT probablemente subestime la toxicidad calculada para la sumatoria de los agrotóxicos totales determinada.

Casi todas las muestras de sedimento de los arroyos estudiados contenían múltiples agrotóxicos de al menos dos clases de biocidas diferentes, lo que generó incertidumbre en la estimación de los efectos tóxicos. Aunque los efectos combinados de los biocidas de una misma clase pueden predecirse relativamente bien, los efectos combinados de la mezcla de varias clases son más difíciles de predecir (Lydy *et al.*, 2004). Bjergager *et al.* (2011) evaluaron el potencial sinérgico de los fungicidas en los piretroides en un microcosmos acuático. En tratamientos con piretroide-fungicida, las comunidades de cladóceros, copépodos y quironómidos mostraron una mayor disminución en su abundancia, en comparación con los tratamientos de piretroide sólo. Los ostrácodos y rotíferos no se vieron afectados significativamente por ninguno de los tratamientos. En el presente trabajo de tesis, con las concentraciones determinadas de endosulfán, endosulfán sulfato o clorpirifos resulta improbable que por sí solos causen toxicidad aguda significativa a la mayoría de los invertebrados acuáticos, pero podrían contribuir a la toxicidad aguda cuando se mezclan con otros agrotóxicos. Si bien generalmente se presume que los biocidas de clases similares y con el mismo modo de acción, actúan por adición de concentración, los agrotóxicos con diferentes modos de acción pueden actuar por acción independiente, antagonista o sinérgicamente (Trimble *et al.*, 2009). Existe, además, un efecto mucho más difícil de evaluar y predecir que son los efectos crónicos o subletales, producidos por las bajas concentraciones de los agrotóxicos o sus mezclas (Cooper 1993).

Para este trabajo se determinó la concentración de los biocidas en sedimentos, porque los más comúnmente usados en la región (endosulfán, clorpirifos, piretroides) son hidrofóbicos y tienden a adsorberse a la fracción particulada. Sin embargo, algunos de los insecticidas sistémicos de utilización creciente, como los neonicotinoides, están

siendo progresivamente más utilizados en la producción de soja en América del Sur, y tienen una elevada solubilidad en agua (Hunt *et al.*, 2016). Los neonicotinoides se aplican a menudo en combinación con piretroides para el control de las plagas de hemípteros en la soja. Estudios recientes en regiones productoras de soja de América del Sur detectaron imidacloprid en el 43% de las muestras de agua superficial (De Geronimo *et al.*, 2014) y tiametoxam en el 100% de las muestras de aguas superficiales (Rocha *et al.*, 2015). Por esta razón, se sugiere que la concentración de los agrotóxicos determinados en sedimento en el presente trabajo subestima la toxicidad para la fauna residente.

Las áreas estudiadas en Brasil y Paraguay están en una región de características edáficas y climáticas homogéneas y pertenecen a la misma provincia biogeográfica, la Selva Paranaense (Morrone, 2014). En principio, cabría esperar que la composición de los ensambles de invertebrados sea similar, sin embargo, se observaron diferencias. La riqueza taxonómica y la abundancia resultaron mayores en Paraguay, como así también los índices de diversidad y equitatividad fueron significativamente diferentes (Margalef, Shannon-Wiener, Simpson y Pielou). La mayor proporción de limo se determinó en Brasil, característica que se asocia con la erosión agrícola, mientras que en Paraguay esta fracción fue menor y mayor la de arena, probablemente asociado con la retención del material fino en las franjas de atenuación más anchas y extensas.

En la presente tesis se determinó las variables ambientales que tienen mayor injerencia en la composición de los ensambles de macroinvertebrados en los arroyos regionales. Las variables que describen cualidades del sustrato, fundamentalmente la materia orgánica y textura de los sedimentos, son la que poseen mayor influencia. Tres variables que caracterizan la materia orgánica: COT, MOPF y MOPG y dos que caracterizan la textura: porcentaje de limo y arena, muestran correlación con la abundancia de numerosos grupos taxonómicos. Se detectó el mayor contenido de COT, MOPF, MOPG en Brasil que, conjuntamente con el limo, afectan negativamente a casi todos los grupos, con la excepción de Diptera, el cual mostró correlación positiva. Este grupo taxonómico resultó ser el más abundante en Brasil, donde representó 57% de la abundancia total, contra sólo 27% en Paraguay (Figura 4.1). Asimismo, Diptera y Bivalvia, más abundantes en Brasil, registraron correlación positiva con algunos agrotóxicos; interpretándose que su mayor tolerancia representa una ventaja competitiva, dado que la eliminación de los grupos más sensibles resulta en una mayor

disponibilidad de recursos para los tolerantes. Por el contrario, los taxones Coleoptera, Ephemeroptera, Trichoptera y % EPT fueron más abundantes en Paraguay, los cuales, resultaron favorecidos por el porcentaje de arena y desfavorecidos por el porcentaje de limo. La mayoría de los Ephemeroptera y algunos Trichoptera y Coleoptera, mostraron también correlación inversa con la concentración de agrotóxicos. Los resultados obtenidos coinciden con la literatura, Richards *et al.* (1993) informaron que los factores morfológicos más importantes que afectan a las comunidades de invertebrados en arroyos en una región dominada por la agricultura están relacionados con la composición del sustrato y la distribución de sedimentos finos. En 24 sitios de la cuenca de la bahía Sanginaw, Michigan EE. UU. evaluaron la morfología y atributos del hábitat, utilizando el Índice de Evaluación Cuantitativa del Hábitat (QHEI). Sustratos con proporciones de sedimentos finos o limo orgánico se clasificaron con menor puntaje que los sustratos compuestos principalmente de adoquines y grava. La riqueza de EPT (número de taxones de Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera) observada mostró una correlación positiva con la puntuación del sustrato QHEI. La depositación de sedimentos finos, además de cambiar el tipo de sustrato disponible para los invertebrados, puede alterar la morfología del arroyo y reducir la diversidad estructural del hábitat utilizado por los organismos bentónicos, rellenando intersticios y cubriendo superficies rocosas (Wood & Armitage, 1997). Varios estudios han identificado reducciones en densidad y biomasa de macroinvertebrados a partir de la deposición de sedimentos en suspensión. Sin embargo, no siempre la reducción es debido a las respuestas diferenciales de cada taxón al sustrato (Lenat *et al.*, 1981; Erman & Erman, 1984). De hecho, el hábitat de algunas especies puede mejorar con los sedimentos finos, lo que resultaría en un cambio en la composición del ensamble de macroinvertebrados (Richards *et al.*, 1993). En esta tesis, se observó que el alto contenido de materia orgánica y porcentaje de limo favoreció la abundancia de sólo algunos grupos, mientras que la mayoría se correlacionó negativamente. Resulta de interés señalar también, que ambas características, COT y % limo, se correlacionaron positivamente con la concentración de agrotóxicos. Es bien conocido que muchos biocidas son hidrofóbicos y se adsorben a los sedimentos (Hunt *et al.*, 2016). Por lo cual, con la información disponible, no es posible dilucidar si el efecto observado es debido sólo al tipo de sustrato o a la acumulación de agrotóxicos en el mismo. La correlación entre la abundancia de numerosos grupos taxonómicos y la concentración de agrotóxicos

sugiere que no se puede desestimar su efecto y, que la toxicidad contribuye a la composición de los ensambles.

El ancho de la franja de atenuación, como se informó anteriormente, se correlacionó negativa y significativamente con las concentraciones de los biocidas en Brasil, donde hubo una variabilidad sustancial en el ancho de la franja. Por el contrario, en Paraguay, donde los arroyos presentaban una franja generalmente boscosa a lo largo de toda su longitud, con mayor ancho y menor variabilidad; no se observó relación con la concentración de biocidas. Los resultados obtenidos en Brasil son consistentes con otros estudios realizados en Europa, América del Norte y Sudamérica donde han observado que el ancho de la zona ribereña es un importante atenuador del ingreso de agrotóxicos a los arroyos (Di Marzio *et al.*, 2010; Bunzel *et al.*, 2014; Reichenberger *et al.*, 2007; Aguiar *et al.*, 2015). Bunzel *et al.* (2014) analizaron 663 muestras de sitios ubicados en cuatro estados de Alemania y observaron que los tramos forestados aguas arriba y las franjas de atenuación pueden mitigar los efectos y la exposición de los agrotóxicos. Asimismo, un estudio realizado en el área central del cultivo de soja en Argentina evidenció que la mortalidad del anfípodo, *Hyaella curvispina*, se correlacionó significativamente con la concentración de endosulfán en agua y sedimentos y, a su vez, estos se correlacionaron inversamente con la distancia entre el cultivo y el arroyo (Di Marzio *et al.*, 2010). Varios factores influyen en el ancho necesario para proteger los cuerpos de agua de la exposición a los agrotóxicos, incluyendo gradiente, tipo de vegetación, propiedades del suelo, tipos y cantidad de biocidas aplicados (Reichenberger *et al.*, 2007; Bunzel *et al.*, 2014).

Debido a que casi todos los arroyos de la Selva Paranaense estudiados en la presente tesis tenían una zona buffer forestada relativamente grande, es posible que los efectos sobre los ensambles de macroinvertebrados fuera menos evidente que los observados en otros estudios similares donde los arroyos poseen menor ancho y mayor variabilidad en la franja de atenuación. En cada sitio muestreado se midió, inmediatamente aguas arriba, el ancho mínimo observado de la franja y se confirmó la medición utilizando las imágenes LANDSAT. En las imágenes satelitales se aprecia que, para la mayoría de los arroyos, las franjas de atenuación forestadas se extendían a lo largo de toda la cuenca e incluso alrededor de los pequeños afluentes. Por el contrario, estudios previos que han establecido zonas de amortiguación de ribera eficaces para mitigar los efectos de los agrotóxicos sobre los ensambles de

macroinvertebrados, han evaluado generalmente arroyos con zonas buffer protegidas mucho más pequeñas que los del presente estudio. Un estudio en Ontario informó que el área forestal dentro de una zona de ribera de 30 m estaba positivamente correlacionada con el aumento de la riqueza de Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera (EPT) y la diversidad de taxones (Rios & Bailey, 2006). Se sugiere que la mayor riqueza de taxones observada en los arroyos de Paraguay se deba, al menos en parte, a que las franjas de atenuación fueran más grandes comparadas con las de Brasil.

Varios autores han demostrado que la presencia de franjas de atenuación forestadas a lo largo de las márgenes de los arroyos puede mitigar parcialmente los efectos de los biocidas y se consideran como posibles fuentes de recolonización, ya que proporcionan reservorios de poblaciones de invertebrados, que mejoran la recuperación de las comunidades aguas abajo después de la perturbación (Liess y von der Ohe, 2005; Schäfer *et al.*, 2007; Orlinskiy *et al.*, 2015; Schriever *et al.*, 2007). En un estudio realizado en una región agrícola de Alemania, se observó que las cabeceras forestales aguas arriba mitigaban los efectos de los agrotóxicos en las poblaciones de invertebrados aguas abajo (Orlinskiy *et al.*, 2015). En los arroyos estudiados de Argentina, con producción intensiva de soja, se detectaron niveles de biocidas similares a los determinados para Brasil y Paraguay, aunque en los arroyos pampeanos el impacto sobre los taxones sensibles estaba más claramente correlacionado. Una posible razón de esta discrepancia puede ser que los arroyos de Argentina no poseen franjas de atenuación o son mucho más pequeñas, por lo que las comunidades de invertebrados no serían tan resilientes. Además, otra diferencia es que los ensambles de macroinvertebrados de los sitios muestreados en la Selva Paranaense poseen taxones (EPT) que tiende a ser sensibles no sólo a los biocidas sino también a muchas variables de hábitat y calidad de agua como lo indica su correlación con el índice RBP, coincidentemente con la literatura (Bunzel *et al.*, 2013).

Aunque la regulación de mitigación de agrotóxicos a menudo se centra en las prácticas de aplicación, las medidas a escala de paisaje, tales como la exigencia de mantener franjas de atenuación en las riberas, podrían llegar a ser más fáciles de implementar y fiscalizar. Bereswill *et al.* (2014) recopilaron la información disponible en la literatura sobre la eficacia y la viabilidad de las medidas de mitigación para la entrada difusa de agrotóxicos a los ecosistemas acuáticos y clasificaron las franjas de

atenuación como altamente eficaces para atenuar tanto la deriva de la pulverización como la escorrentía.

Conclusiones

En el presente trabajo de tesis se determinó que el uso del suelo en la cuenca influye en la concentración de nutrientes en el agua y de agrotóxicos en los sedimentos de los arroyos. La hipótesis planteada fue confirmada, la utilización intensiva de agroquímicos en la agricultura produce un impacto en los ensambles de macroinvertebrados que habitan en los cuerpos de agua adyacentes a los cultivos.

Los agroquímicos se aplican durante el período de crecimiento de los cultivos e ingresan a los arroyos durante los eventos de escorrentía superficial producidos por las lluvias posteriores a las aplicaciones. Los agrotóxicos detectados en las muestras de sedimentos de todos los arroyos de cuencas agrícolas son los más utilizados en los cultivos de las regiones estudiadas y en su mayoría son hidrofóbicos, por tal motivo son parcialmente retenidos en los sedimentos de los arroyos donde su permanencia es más prolongada que en la fase acuosa. La composición de los ensambles de invertebrados resultó significativamente distinta en los arroyos agrícolas. Los taxones que caracterizan los ensambles de ambientes de bajo impacto, arroyos de cuencas con ganadería extensiva sobre pasturas naturales, y la reserva fueron Hyalellidae, Aeglidae, Paleomonidae y Caenidae. La fauna de invertebrados en los arroyos agrícolas se caracterizó por la dominancia de Hirudinea, Oligochaeta, Gastropoda, Bivalvia y ocasionalmente Chironomidae. Estos resultados son coincidentes con lo observado en el primer capítulo “ensayos de toxicidad” y con los datos bibliográficos donde se elaboran clasificaciones basadas en la sensibilidad de distintos taxones de macroinvertebrados. Crustacea representó el taxón más abundante en la mayoría de los ambientes Pampeanos con bajo impacto y *H. curvispina* la especie dominante en muchos de ellos. Se demostró experimentalmente que la sensibilidad de este anfípodo para los agrotóxicos es similar a la de *H. azteca* y que ambos organismos son más sensibles que la mayoría de los taxones de invertebrados de agua dulce. En el estudio de campo se observó que *H. curvispina* está ausente o presente en baja densidad en arroyos agrícolas, representando un buen indicador de la contaminación por agrotóxicos.

En este trabajo la abundancia de varios grupos taxonómicos se correlacionó inversamente con la concentración de los agrotóxicos en los sedimentos o sus unidades tóxicas, fundamentalmente las familias consideradas sensibles; por el contrario, se determinaron correlaciones positivas entre algunos grupos, generalmente los dominantes en los arroyos agrícolas, y las concentraciones de biocidas. Los grupos tolerantes muestran un incremento de la abundancia con el aumento de la concentración

de los biocidas debido, posiblemente, a que se ven favorecidos por la desaparición de los más sensibles o por el incremento de la oferta alimentaria dado por el enriquecimiento de nutrientes, los cuales llegan a los arroyos junto con los agrotóxicos.

Las características del ambiente que influyen en la composición del ensamble de macroinvertebrados fueron determinadas, las principales variables fueron el porcentaje de materia orgánica y la textura de los sedimentos. Hay grupos que se correlacionaron positivamente con la textura fina (limo, arcilla) y la materia orgánica y negativamente con la gruesa (arena). Se puede conjeturar que la materia orgánica represente un recurso alimenticio para estos grupos. No obstante, son más los taxones que se correlacionan negativamente con la textura fina y la materia orgánica y positivamente con la gruesa. Ciertamente estas variables tienen una influencia “per se” en el habitat, en las características químicas del agua intersticial. Sin embargo, resulta de interés señalar que se detectó correlación positiva entre la materia orgánica y las texturas finas con la concentración de varios agrotóxicos y relaciones inversas entre estos últimos y la textura gruesa, de modo tal que la toxicidad contribuye en una magnitud difícil de cuantificar en el efecto de estas variables ambientales.

Se observó reiteradamente correlaciones positivas entre la concentración de PRS y la concentración de agrotóxicos y negativas entre el PRS y la abundancia de algunos grupos taxonómicos. El PRS aplicado sobre el cultivo, se adsorbe al suelo e ingresa a los arroyos con la fracción particulada de la escorrentia superficial en simultaneidad, muchas veces, con los agrotóxicos. Por tal motivo, el PRS representa un buen indicador del impacto agrícola.

En la presente tesis se determinó que la presencia de una franja de terreno sin cultivar, cubierta de vegetación natural, tiene un efecto atenuador del impacto agrícola en los arroyos. El ancho de la franja se correlacionó negativamente con la concentración de agrotóxicos. En Brasil y Paraguay se estudiaron zonas de características ambientales bastante homogéneas, ambas cuentan con el mismo suelo, clima y corresponden a la misma región biogeográfica. No obstante, se registraron diferencias en la composición de los ensambles de macroinvertebrados. Paraguay cuenta con mayor riqueza taxonómica, abundancia y mayor índice de diversidad. La diferencia más evidente entre ambas regiones es el ancho en las franjas de atenuación, siendo mayor en Paraguay. Ambos países tienen legislación que exige a los productores dejar una franja sin cultivar

entre el cultivo y los arroyos. El efecto atenuador de las franjas fue confirmado en la presente tesis. Por tal motivo, sería importante implementar una normativa semejante en nuestra región para limitar el transporte de agroquímicos desde los cultivos a los arroyos.

Bibliografía

- Aguiar T.R., Bortolozo F.R., Hansel F.A., Rasera K., Ferreira M.T., 2015. Riparian buffer zones as pesticide filters of no-till crops. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 10618–10626. doi:10.1007/s11356-015-4281-5.
- Alba-Tercedor J., 1996. Macroinvertebrados acuáticos y calidad de agua de los ríos. IV Simposio del agua en Andalucía (SIAGA). Almería. 2: 203–213.
- Amweg E.L., Weston D.P., Johnson C.S., You J., Lydy M.J., 2006. Effect of piperonyl butoxide on permethrin toxicity in the amphipod *Hyalella azteca*. *Environ. Toxicol. Chem.* 25 (7): 1817–1825.
- ANVISA (Agência Nacional De Vigilância Sanitária), 2010. Resolución RDC N° 28: Regulamento Técnico para o Ingrediente Ativo Endossulfam em decorrência da Reavaliação Toxicológica.
- APHA (American Public Health Association), 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington. 1193 pp.
- APHA (American Public Health Association), 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (20 ed.). Washington.
- Armendáriz L. C., Ocón C., Rodrigues Capítulo A., 2012. Potential responses of oligochaetes (Annelida, Clitellata) to global changes: experimental fertilization in a lowland stream of Argentina (South America). *Limnologia* 42: 118-126.
- Astoviza MJ, Cappelletti N, Bilos C, Migoya MC, Colombo JC (2015) Massive airborne Endosulfan inputs related to intensive agricultura in Argentina's Pampa. *Chemosphere* 144:1459-1466.
- Athor J., 2009. Parque Costero del Sur – Naturaleza, Conservación y Patrimonio Cultural. Fundación de Historia Natural “Félix de Azara”, Buenos Aires, 528 pp.
- Barbour M.T. & Gerritsen J., 1996. Subsampling of Benthic Samples: A Defense of the Fixed-Count Method. *J. North Am. Benthol. Soc.* 15, 386. doi:10.2307/1467285
- Barbour M.T., Diamond J.M., Yoder C.O., 1996. Biological assessment strategies: Applications and Limitations; in *Whole effluent toxicity testing: An evaluation of methods and prediction of receiving system impacts* (Grothe D.R., Dickson K.L. and Reed-Judkins D.K.). SETAC Press, Pensacola, Florida. 245-270
- Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D., Stribling J.B., 1999. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish. 2nd Edition. EPA/841-B-99-002. USEPA, Office of Water, Washington, D.C. 197 pp.
- Bejarano F., Souza J., Weber JM., Guadarrama C., Escamilla E., Beristáin B., Acosta M., Cárcamo MI., Ramírez F., 2008. El endosulfán y sus alternativas en América Latina. RAPAL-IPEN-RAPAM-UACH. Santiago de Chile 148 pp.
- Bereswill R., Streloke M., Schulz R., 2014. Risk mitigation measures for diffuse pesticide entry into aquatic ecosystems: proposal of a guide to identify appropriate measures on a catchment scale. *Integrated Environmental Assessment and Management* 10 (2): 286–298.

- Bjergager M.A., Hanson M.L., Lissemore L., Henriquez N., Solomon K.R., Cedergreen N., 2011. Synergy in microcosms with environmentally realistic concentrations of prochloraz and esfenvalerate *Aquatic Toxicology*, 101: 412-422.
- Borin M., Passonia M., Thieneb M., Tempesta T., 2010. Multiple functions of buffer strips in farming areas. *Europ. J. Agronomy* 32: 103–111.
- Bouchard R.W. Jr., 2004. Guide to Aquatic Macroinvertebrates of the Upper Midwest. Water Resources Center, University of Minnesota, St Paul, MN. 208 pp.
- Bruno D., Belmar O., Sánchez-Fernández D., Guareschi S., Millán A., Velasco J., 2014. Responses of Mediterranean aquatic and riparian communities to human pressures at different spatial scales. *Ecolog. Ind.* 45, 456–464.
- Bueno A., Batistela M.J., Bueno R.C.O., Franca-Neto J., Nishikawa M.A.N., Filho A.L., 2011. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. *Crop Prot.* 30 (7): 937–945.
- Bunzel K., Kattwinkel M., Liess M., 2013. Effects of organic pollutants from wastewater treatment plants on aquatic invertebrate communities. *Water Res.* 47: 597–606. doi: 10.1016/j.watres.2012.10.031.
- Bunzel K., Liess M., Kattwinkel M., 2014. Landscape parameters driving aquatic pesticide exposure and effects. *Environ. Pollut.* 186: 90–97. doi: 10.1016/j.envpol.2013.11.021.
- Carter J.L. & Resh V.H., 2013. Analytical Approaches Used in Stream Benthic Macroinvertebrate Biomonitoring Programs of State Agencies in the United States. United States Geological Survey Open-File Report 2013–1129.
- CASAFE (Cámara Argentina de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes), 2012. Mercado Argentino de Productos Fitosanitarios 2012. Disponible en: <http://www.casafe.org/publicaciones/estadisticas/> Acceso 2017.
- Casara K.P., Vecchiato A.B., Lourencetti C., Pinto A.A., Doris E.F., 2012. Environmental dynamics of pesticides in the drainage area of the São Lourenço River headwaters, Mato Grosso State, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.* 23: 1719–1731.
- Castanheira É.G. & Freire F., 2013. Greenhouse gas assessment of soybean production: implications of land use change and different cultivation systems. *J. Clean. Prod.* 54: 49–60. doi: 10.1016/j.jclepro.2013.05.026.
- CIAFA (Cámara de la industria argentina de fertilizantes y agroquímicos), 2015. Consumo de fertilizantes en el agro 2015. Disponible en: http://www.ciafa.org.ar/files/WKtNkYAJ72xppWqLgPvbdFywAE8qGAWuDyYa_iD8f.pdf Acceso 2017.
- Clarke K.R. & Gorley R.N., 2001. PRIMER v5: User Manual/Tutorial PRIMER-E: Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research, 91 pp.
- Clarke K.R. & Warwick, R.M., 2001. Change in Marine Communities, an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd Edition. PRIMER-E: Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research.
- Clarke R.T., Wright J.F., Furse M.T., 2003. RIVPACS models for predicting the expected macroinvertebrate fauna and assessing the ecological quality of rivers. *Ecological Modelling* 160 (3): 219-233.

- Código Florestal (lei federal nº 12.651/12), 2012. <http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2012/lei-12651-25-maio-2012-613076-normaactualizada-pl.pdf> Acceso 2018.
- Cooper CM., 1993. Biological effects of agriculturally derived surface-water pollutants on aquatic systems. *Environ. Toxicol. Chem.* 12: 402–408.
- Corigliano M., Gualdoni C., Oberto A.M., Raffaini G.B., 2005. Distribución altitudinal de macroinvertebrados en paisajes fluviales rurales y urbanos en subcuencas del río Carcarañá, Pcia. Córdoba. *Rev. univ. Nac. Río Cuarto*. 25: 125-142.
- Cortelezzi A., Ocón C., Lopez Van Oosterom V., Cepeda R., Rodrigues Capítulo A., 2015. Nutrient enrichment effect on macroinvertebrates in a lowland stream of Argentina. *Porto Alegre. Iheringia, Serie Zoologia* 105(2): 228-234. <https://dx.doi.org/10.1590/1678-476620151052228234>.
- Cruz-Miranda S.G., Stanford-Camargo S.G., Ibarra González M.P., Medina-Ortiz G.R., Morales Moreno A., 2015. Hidrofílicos (Coleoptera: Hydrophilidae) de dos localidades de la sierra de Huautla Morelos, México. *Entomología Mexicana* 2: 608-612.
- De Geronimo E., Aparicio V.C., Barbaro S., Portocarrero R., Jaime S., Costa J.L., 2014. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere* 107: 423–431.
- Derpsch R., 2010. Avances y perspectivas para la siembra directa a nivel mundial. *El Productor* 121: 18-22. Disponible en: <http://issuu.com/genow/docs/productor121>. Acceso 2017.
- DGEEC (Dirección General de Estadística, Encuestas y Censos), 2015. Atlas Censal del Paraguay. Asunción. Secretaría Técnica de Planificación. Disponible en: <http://www.dgeec.gov.py/Publicaciones/Biblioteca/anuario2015/Anuario%20Estadistico%202015.pdf>. Acceso 2018.
- Di Marzio W.D., Sáenz M.E., Alberdi J.L., Fortunato N., Cappello V., Montivero C., Ambrini G., 2010. Environmental impact of insecticides applied on biotech soybean crops in relation to the distance from aquatic ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.* 29(9): 1907-1917. doi:10.1002/etc.246
- Domínguez E. & Fernández H.R., 1998. Calidad de los ríos de la cuenca del Salí (Tucumán Argentina) medida por un índice biótico. *Serie conservación de la Naturaleza* nº 12. Fundación Miguel Lillo, Republica Argentina, 39 pp.
- Dominguez E. & Fernandez H. R., 2009. Macroinvertebrados bentónicos. *Sistemática y biología*. 1ª ed. Fundación Miguel Lillo, Tucumán. 656 pp.
- Dores E.J.G.C., 2015. Pesticides in the Pantanal. In: Bergier, I., Assine, M.L. (Eds.), *Dynamics of the Pantanal Wetland in South America. The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer International Publishing, Switzerland. http://dx.doi.org/10.1007/698_2015_356.
- Duggan I.C., Green J.D., Thompson K., Shiel R.J., 2001. The influence of macrophytes on the spatial distribution of littoral rotifers. *Freshwater Biology* 46:777-786.
- Egler M.A., Buss D.F., Moreira J.C., Baptista D.F., 2012. Influence of agricultural land-use and pesticides on benthic macroinvertebrate assemblages in an agricultural river basin in southeast Brazil. *Braz. J. Biol.* 72: 437-443.

- Ekboir J., 2001. Sistemas de innovación y política tecnológica: siembra directa en el MERCOSUR. Capítulo: Cambio técnico e impacto ambiental. En: Díaz Rossello, R. (Editor). Siembra Directa en el Cono Sur. INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay. 1-19.
- Erman D.C. & Erman N.A., 1984. The response of invertebrates to substrate size and heterogeneity. *Hydrobiologia*, 108: 75-78.
- FARN (Fundación Ambiente y Recursos Naturales), 2015. Agroquímicos, un debate nacional pendiente por Di Paola María Marta. <https://farn.org.ar/wp-content/plugins/download-attachments/includes/download.php?id=18083>. Acceso 2018.
- Ferreiro N., Feijoó C., Giorgi A., Rosso J., 2014. Macroinvertebrates select complex macrophytes independently of their body size and fish predation risk in a Pampean stream. *Hydrobiologia*. doi:10.1007/s10750-014-1953-y.
- Fierro P., Bertrán C., Mercado M., Peña-Cortés F., Tapia J., Hauenstein E., Vargas-Chacoff L., 2012. Benthic macroinvertebrates assemblages as indicators of water quality applying a modified biotic index in a spatio-seasonal context in a coastal basin of southern Chile. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 47: 23–33.
- Fierro P., Bertrán C., Mercado M., Peña-Cortés F., Tapia J., Hauenstein E., Caputo L., Vargas-Chacoff L., 2015. Landscape composition as a determinant of diversity and functional feeding groups of aquatic macroinvertebrates in southern rivers of the Araucanía, Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 43: 186–200.
- Fierro P., Bertrán C., Tapia J., Hauenstein E., Peña-Cortés F., Vergara C., Cerna C., Vargas-Chacoff L., 2017. Effects of local land-use on riparian vegetation, water quality, and the functional organization of macroinvertebrate assemblages. *Science of the Total Environment* 609: 724–734.
- Fierro P., Valdovinos C., Vargas-Chacoff L., Bertrán C., Arismendi I., 2017. Macroinvertebrates and fishes as bioindicators of stream water pollution. In: Tutu, H. (Ed.), *Water Quality*. Intechopen, Rijeka 23–38.
- FOCUS 2007. “Landscape and Mitigation Factors in Aquatic Risk Assessment. Volume 2. 33 Detailed Technical Reviews”. Report of the FOCUS Working Group on Landscape 34 and Mitigation Factors in Ecological Risk Assessment, EC Document Reference 35 SANCO/10422/2005 v2.0. 436 pp.
- Friberg-Jensen U., Wendt-Rasch L., Woin P., Christoffersen K., 2003. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquatic Toxicology* 63: 357-371.
- Gabellone N., Claps M., Solari L., Neschuk N., 2005. Nutrients, conductivity and plankton in a landscape approach to a Pampean saline lowland river (Salado River, Argentina). *Biogeochemistry* 75: 455–477.
- García-López G.A., Arizpe N., 2010. Participatory processes in the soy conflicts in Paraguay and Argentina. *Ecological Economics*, 70(2): 196–206.
- Gerth W., Li J., Giannico R., 2017. Agricultural land use and macroinvertebrate assemblages in lowland temporary streams of the Willamette Valley, Oregon, USA. *Agric. Ecosyst. Environ.* 236: 154–165.

- Gibbins C.N., Dilks C.F., Malcolm R., Soulsby C., Juggins S., 2001. Invertebrate communities and hydrological variation in Caringorm mountain streams. *Hydrobiologia* 462: 205–219.
- Giddings J.M., Solomon K.R., Maund S.J., 2001. Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids. II. Aquatic mesocosm and field studies. *Environ. Toxicol. Chem.* 20 (3): 660–668.
- Gómez N., Sierra M.V., Cortelezzi A., Rodríguez-Capítulo A., 2008. Effects of discharges from the textile industry on the biotic integrity of benthic assemblages. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 69: 472–479.
- González-Córdoba M., Zúñiga M.C., Manzo V., 2015. Riqueza genérica y distribución de Elmidae (Insecta: Coleoptera, Byrrhoidea) en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alexander von Humboldt" Bogotá, Colombia. *Biota Colombiana* 16(2): 51–74.
- Gücker B., Boëchat I.G., Giani A., 2009. Impacts of agricultural land use on ecosystem structure and whole-stream metabolism of tropical Cerrado streams. *Freshw. Biol.* 54: 2069–2085. doi:10.1111/j.1365-2427.2008.02069.x
- Hering D., Moog O., Sandin L., Verdonshot P., 2004. Overview and application of the AQEM assessment system. *Hydrobiologia* 516: 1–20.
- Hunke P., Mueller E.N., Schröder B., Zeillhofer P., 2015. The Brazilian Cerrado: assessment of water and soil degradation in catchments under intensive agricultural use. *Ecohydrology* 8: 1154–1180.
- Hunt L., Bonetto C., Resh V.H., Buss D.F., Fanelli S., Marrochi N., Lydy M.J., 2016. Insecticide concentrations in stream sediments of soy production regions of South America. *Sci. Total Environ.* 547: 114–124. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.12.140
- Jergentz S., Mugni H., Bonetto C., Schulz R., 2004a. Runoff-related endosulfan contamination and aquatic macroinvertebrate response in rural basins near Buenos Aires, Argentina. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 46: 345–353.
- Jergentz S., Mugni H., Bonetto C., Schulz R., 2005. Assessment of insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main soybean area of Argentina. *Chemosphere* 61: 817–826.
- Jergentz S., Pessacq P., Mugni H., Bonetto C., Schulz R., 2004b. Linking in situ bioassays and dynamics of macroinvertebrates to assess agricultural contamination in streams of the Argentine Pampa. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59: 133–141. doi: 10.1016/j.ecoenv.2004.06.007
- Jones K.B., Neale A.C., Nash M.S., Van Remortel R.D., Wickham J.D., Riitters K.H., O'Neill R.V., 2001. Predicting nutrient and sediment loadings to streams from landscape metrics: a multiple watershed study from the United States Mid-Atlantic Region. *Landsc. Ecol.* 16: 301–312.
- Laabs V., Amelung W., Pinto A.A., Wantzen M., da Silva C.J., Zech W., 2002. Pesticides in surface water, sediment, and rainfall of the northeastern Pantanal basin, Brazil. *J. Environ. Qual.* 31: 1636–1648.

- Lammert M. & Allan D., 1999. Assessing biotic integrity of streams: effects of scale in measuring the influence of land use/cover and habitat structure on fish and microinvertebrates. *Environmental Management* 23: 257-270.
- Lenat D.R. & Barbour M.T., 1994. Using benthic macroinvertebrate community structure for rapid, cost-effective, water quality monitoring: rapid bioassessment. In *Biological monitoring of aquatic systems* (Loeb SL & A Spacie). Lewis Publishers, Ann Arbor, Michigan, USA 187-215.
- Lenat D.R., Penrose D.L., Eagleson K.W., 1981. Variable effects of sediment addition on stream benthos. *Hydrobiologia*, 79: 187-19.
- Leps J. & Smilauer P., 2003. *Multivariate Analysis of Ecological Data Using CANOCO*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Liess M. & Von Der Ohe P.C., 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 954–965.
- Lydy M., Belden J., Wheelock C., Hammock B., Denton D., 2004. Challenges in regulating pesticide mixtures. *Ecology and Society*. 9 (6): 1. <https://www.ecologyandsociety.org/vol9/iss6/art1/>
- Magurran A. E., 1988. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press, New Jersey. 180 pp.
- MAGyP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación); SIIA sistema integrado de información agropecuaria. Disponible en: <https://datos.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>. Acceso 2017.
- Marino D. & Ronco A., 2005. Cypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 75: 820-826. doi:10.1007/s00128-005-0824-7
- Matthaei C.D., Piggott J.J., Townsend C.R., 2010. Multiple stressors in agricultural streams: interactions among sediment addition, nutrient enrichment and water abstraction. *J. Appl. Ecol.* 47: 639–649. doi:10.1111/j.1365-2664.2010.01809.x
- Merritt R.W., Cummins K.W. & Berg M.B., 2008. *An introduction to the aquatic insects of North America* (4^{ed}). Kendall-Hunt Publ. Co. Dubuque, IA. 1158 pp.
- Meybeck M., 1998. Man and river interface: multiple impacts on water and particulates chemistry illustrated in the Seine river basin. *Hydrobiologia* 373/374: 1-20.
- Miller C., Denis J., Ator S. & Brakebill J., 1997. Nutrients in streams during baseflow in selected environmental settings of the Potomac River basin. *J. Am. Water Res. Assoc.* 33: 1155-1171.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2009. República del Paraguay. Ley N° 3742/09: de control de productos fitosanitarios de uso agrícola. Disponible en: <http://www.senave.gov.py/docs/leyes/LEY3742-2009.pdf> Acceso 2018.
- Miranda K., Cunha M.L.F., Dorés E.F.G.C., Calheiros D.F., 2008. Pesticide residues in river sediments from the Pantanal Wetland, Brazil. *Journal of Environmental Science and Health Part B.* 43(8): 717–722.

- Miserendino M.L. & Masi C.I., 2010. The effects of land use on environmental features and functional organization of macroinvertebrate communities in Patagonian low order streams. *Ecological Indicators* 10: 311 - 319.
- Miserendino M.L. & Pizzolón L.A., 1999. Rapid assesment of river water quality using macroinvertebrates: A family level biotic index for the Patagonic andean zone. *Acta Limnológica Brasillensia* 11: 137-148.
- Miserendino M.L., Brand C., Di Prinzio C.Y., 2008. Assessing urban impacts on water quality, benthic communities and fish in streams of the Andes mountains, Patagonia (Argentina). *Water, Air, and Soil Pollution* 194: 91-110.
- Miserendino M.L., Casaux R., Archangelsky M., Di Prinzio C.Y., Brand C., Kutschker A.M., 2011. Assessing land-use effects on water quality, in-stream habitat, riparian ecosystems and biodiversity in Patagonian northwest streams. *Science of the Total Environment* 409: 612-624.
- Moltoni L., 2012. Evolución del mercado de herbicidas en Argentina. *Economía y Desarrollo Agroindustrial. INTA – Instituto de Ingeniería Rural* 1 (2): 1-6.
- Morrone J.J., 2014. Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa* 3782:110 pp.
- Mugnai R., Nessimian J.L., Ferdandes Baptista D., 2010. Manual de identificación de Macroinvertebrados acuáticos del Estado de Rio de Janeiro. 1º Ed. Technical Books, Rio de Janeiro, Brasil. 155 pp.
- Mugni H., 2009. Concentración de nutrientes y toxicidad de pesticidas en aguas superficiales de cuencas rurales. Tesis doctoral, Universidad de La Plata. 140 pp.
- Mugni H., Demetrio P., Bulus G., Ronco A., Bonetto C., 2011b. Effect of aquatic vegetation on the persistence of cypermethrin toxicity in water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 86: 23–27.
- Mugni H., Paracampo A., Bonetto C., 2013a. Nutrient concentrations in a pampasic first order stream with different land uses in the surrounding plots (Buenos Aires, Argentina). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 91: 391-395.
- Mugni H., Paracampo A., Demetrio P., Scalise A., Solis M., Fanelli S., Bonetto C., 2015. Acute Toxicity of Endosulfan to the Non-target Organisms *Hyaella curvispina* and *Cnesterodon decemmaculatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. doi:10.1007/s00128-015-1608-3
- Mugni H., Paracampo A., Marrochi N., Bonetto C., 2012. Cypermethrin, chlorpyrifos and endosulfan toxicity to two non-target freshwater organisms. *Fresenius Environmental Bulletin* 21 (8): 2085-2089.
- Mugni H., Paracampo A., Marrochi N., Bonetto C., 2013b. Acute toxicity of cypermethrin to the non target organism *Hyaella curvispina*. *Environmental toxicology and pharmacology* 35: 88–92. doi: 10.1016/j.etap.2012.11.008
- Mugni H., Ronco A., Bonetto C., 2011a. Insecticide toxicity to *Hyaella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74: 350–354. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.07.030
- Neumann M. & Dudgeon D., 2002. The impact of agricultural runoff on stream benthos in Hong Kong, China. *Water Research* 36 (12): 3103-3109.

- Nieser N. & Melo A.L. 1997. Os Heterópteros Aquáticos de Minas Gerais. Belo Horizonte, UFMG. 180pp.
- Ocon C.S. & Rodríguez A., 2004. Presence and abundance of Ephemeroptera and other sensitive macroinvertebrates in relation with habitat conditions in pampean streams (Buenos Aires, Argentina). *Archiv Fur Hydrobiologie* 159: 473-487.
- Omernik J.M. 1977. Non-point source – stream nutrient level relationships: a nationwide study. EPA Ecological Research Series EPA-600/3-77-105. USEPA, Office of Research and Development, Environmental Research Laboratory, Corvallis, Oregon, USA, 150 pp
- OPDS (Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible), 2013. Plaguicidas en el territorio bonaerense: información toxicológica, ecotoxicológica y comportamiento ambiental.
- Orlinskiy P., Münze R., Beketov M., Gunold R., Paschke A., Knillmann S., Liess M., 2015. Forested headwaters mitigate pesticide effects on macroinvertebrate communities in streams: Mechanisms and quantification. *Sci. Total Environ.* 524/525, 115–123. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.03.143
- Paracampo A., Mugni H., Demetrio P., Pardi M., Bulus G., Asbornio M., Bonetto C., 2012. Toxicity persistence in runoff and soil from experimental soybean plots following insecticide applications. *J. Environ. Sci. Health, Part B* 47: 761–768.
- Pengue W., 2000. Cultivos transgénicos ¿Hacia dónde vamos? Lugar Editorial, Buenos Aires.
- Pérez G. & Roldán G., 1978. Niveles de contaminación por detergentes y su influencia en las comunidades bénticas del Río Rionegro (Antioquia). *Actualidades Biológicas* 7(24): 27-36.
- Pizzolon L.A. & Miserendino M.L., 2001. - The performance of two regional biotic indices for running water quality in Northern Patagonian Andes. *Acta Limnol. Bras.*, 13(1): 11-27.
- Plafkin J.L., Barbour M.T., Porter K.D., Gross S.K., Hughes R.M., 1989. Rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers: Benthic macroinvertebrates and fish. USEPA, Office of Water Regulations and Standards, Washington, D.C. EPA 440-4-89-001.
- Possavatz J., Zeilhofer P., Pinto A.A., Tives A.L., Dores E., 2014. Resíduos de pesticidas em sedimento de fundo de rio na Bacia Hidrográfica do Rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Ambiente Água* 9: 83–96.
- Potter K.M., Cabbage F.W., Schaberg R.H., 2005. Multiple-scale landscape predictors of benthic macroinvertebrate community structure in North Carolina. *Landsc Urban Plann* 71: 77–90.
- Probst M., Berenzen N., Lentzen-Godding A., Schulz R., Liess M., 2005. Linking land use variables and invertebrate taxon richness in small and medium-sized agricultural streams on a landscape level. *Ecotoxicol Environ Saf* 60: 140–146.
- Quirós R. & Drago E., 1999. The environmental state of Argentinean lakes: an overview. *Lakes and Reservoirs: Res. and Manag.* 4: 55-64.
- Rasmussen J.J., Baattrup-Pedersen A., Wiberg-Larsen P., McKnight U.S., Kronvang B., 2011. Buffer strip width and agricultural pesticide contamination in Danish

- lowland streams: Implications for stream and riparian management. *Ecol. Eng.* 37: 1990–1997. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.08.016
- Reichenberger S., Bach M., Skitsschak A., Frede H., 2007. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; a review. *Science of the Total Environment* 384(1–3):1–35.
- Ribbe L., Delgado P., Salgado E., Flügel W.A., 2008. Nitrate pollution of surface water induced by agricultural non-point pollution in the Pocochay watershed, Chile. *Desalination* 226(1–3): 13–20.
- Richards C., Host G.E., Arthur J.W., 1993. Identification of predominant environmental factors structuring stream macroinvertebrate communities within a large agricultural catchment. *Freshw. Biol.* 29: 285–294.
- Rios S.L. & Bailey R.C., 2006. Relationship between riparian vegetation and stream benthic communities at three spatial scales. *Hydrobiologia* 553: 153–160. doi:10.1007/s10750-005-0868-z
- Rocha M.P., Dourado P.L.R., Rodriques M.S., Raposo J.L., Grisolia A.B., Oliveira K.M.P., 2015. The influence of industrial and agricultural waste on water quality in the Agua Boa Stream (Dourados, Mata Grosso do Sul, Brazil). *Environ. Monit. Assess.* 187 (7): 442.
- Rodrigues-Capítulo, A., Tangorra, M. y Ocón, C., 2001. Use of benthic macroinvertebrates to assess the biological status of Pampean streams in Argentina. *Aquatic Ecology* 35: 109–119.
- Roldán G. & Ramírez J., 2008. *Fundamentos de Limnología Neotropical*. 2. ed. Medellín Colombia.: Editorial Universidad de Antioquia. 439 pp.
- Roldán Pérez G., 1999. Los macroinvertebrados y su valor como indicadores de la calidad del agua. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales* 23 (88): 375–387.
- Rosenberg D.M. & Resh V.H., 1993. Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. In: D.M. Rosenberg & V.H. Resh, eds. *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Chapman and Hall, New York.
- Schäfer, R.B., Caquet, T., Siimes, K., Mueller, R., Lagadic, L., Liess, M., 2007. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. *Sci. Total Environ.* 382, 272–285. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.04.040
- Schriever C.A., Hansler-Ball M., Holmes C., Maund S., Liess M., 2007. Agricultural intensity and landscape structure: influences on the macroinvertebrate assemblages of small streams in northern Germany. *Environ. Toxicol. Chem.* 26: 346–357.
- Schultz R.C., Isenhardt T.M., Colletti J.P., Simpkins W.W., Udawatta R.P., Schultz P.L., 2009. Riparian and upland buffer practices. In Garrett H.E. (ed.) *North American Agroforestry an Integrated science and practice*, 2º ed. American Society of Agronomy, Madison, WI 163– 218 pp.
- Schulz, R. & Liess, M., 1999a. A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. *Aquatic Toxicology* 46: 155–176.

- Schulz, R. & Liess, M., 1999b. Validity and ecological relevance of an active in situ bioassay using *gammarus pulex* and *limnephilus lunatus*. *Environ Toxicol Chem* 18: 2243-2250.
- SENASA, 2011. Resolución 511/2011 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agropecuaria. Disponible en: <http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-511-2011-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria> Acceso 2018.
- SENAVE (Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas), 2010. Resolución 635/10: por la cual se suspende la emisión de nuevos registros y la importación al país de productos técnicos y formulados a base de endosulfán en todas sus concentraciones. Disponible en: http://www.matus-dubarry.com/v2/images/stories/resoluciones/SENAVE/RESOLUCION%20635_10%20POR%20LA%20CUAL%20SE%20SUSPENDE%20LA%20EMISION%20DE%20NUEVOS%20REGISTROS%20Y%20LA%20IMPORTACION%20AL%20PAIS%20DE%20.....pdf Acceso 2018.
- Smetanová S., Bláha L., Liess M., Schäfer R.B., Beketov M.A., 2014. Do predictions from Species Sensitivity Distributions match with field data? *Environmental Pollution* 189: 126–133. doi: 10.1016/j.envpol.2014.03.002
- Solis M., 2017. Impacto de agroquímicos en arroyos de cuencas rurales. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Facultad de Ciencias Naturales y Museo. 131 pp.
- Solis M., Mugni H., Hunt L., Marrochi M.N., Fanelli S., Bonetto C., 2016. Land use effect on invertebrate assemblages in Pampasic streams (Buenos Aires, Argentina). *Environmental Monitoring and Assessment* 188:539.
- Spangler P.J., 1982. Coleoptera. In Hurlbert S.H. & Villalobos-Figueroa A. (eds.). *Aquatic biota of México, Central America, and the West Indies*. San Diego State University, San Diego. California. p. 328-397.
- Stefanidis K., Panagopoulos Y., Mimikou M., 2016. Impact assessment of agricultural driven stressors on benthic macroinvertebrates using simulated data. *Science of the Total Environment* 540: 32-42. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.015
- Stone M.L., Whiles M.R., Webber J.A., Williard K.W.J., Reeve J.D., 2005. Macroinvertebrate Communities in Agriculturally Impacted Southern Illinois Streams. *J. Environ. Qual.* 34 (3): 907-917. doi:10.2134/jeq2004.0305
- Ter Braak C.J.F. & Smilauer P., 1998. *CANOCO Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination*. Ithaca, NY: Microcomputer Power.
- Trimble, A.J., Weston, D.P., Belden, J.B., Lydy, M.G., 2009. Identification and evaluation of pyrethroid insecticide mixtures in urban sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 28 (8), 1687–1695.
- UNEP (United Nations Environment Program), 2011. Stockholm convention on persistent organic pollutants. UNEP/POPS/COP.5/36. Geneva, Switzerland. <http://chm.pops.int/Portals/0/download.aspx?d=UNEP-POPS-COP.5-36.English.pdf> Acceso 2018.
- USDA (United States Department of Agriculture), 1996. Soil survey laboratory methods manual. Soil Survey Investigations Report n°. 42, Version 3.0.

- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2000. Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates, second ed. USEPA, Washington, DC. (EPA 600/R-99/064).
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2000. Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-Associated Contaminants with Freshwater Invertebrates, EPA/600/R-99/064, 2° ed.; Office of Research and Development: Washington DC, USA.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2002. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, EPA 821-R-02-012, 5th ed; Office of Water: Washington DC, USA.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2007. Method 3550C Ultrasonic extraction. Revision 3. Washington DC, USA.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2015a. Species Sensitivity Distribution Generator. <https://www.epa.gov/caddis-vol4/caddis-volume-4-data-analysis-advanced-analyses-controlling-for-natural-variability#tab-5> Acceso 2018.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2015b. ECOTOX Data base. https://cfpub.epa.gov/ecotox/quick_query.htm Acceso 2018.
- Velásquez S.M. & Miserendino M.L., 2003. Habitat type and macroinvertebrate assemblages in low order Patagonian streams. Archiv fur Hydrobiologie 158(4): 461-483.
- Wan M.T., Kuo J., Buday C., Schroeder G., Van Aggelen G., Pasternak J., 2005. Toxicity of α -, β -, (α + β)-endosulfan and their formulated and degradation products to *Daphnia magna*, *Hyaella azteca*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus kisutch*, and biological implications in streams. Environmental Toxicology and Chemistry 24 (5): 1146–1154.
- Weston D.P. & Jackson C.J., 2009. Use of Engineered Enzymes to Identify Organophosphate and Pyrethroid-Related Toxicity in Toxicity Identification Evaluations. Environmental Science & Technology 43: 514–5520. doi:10.1021/es900434z
- Weston D.P., Amweg E.L., Mekebri A., Ogle R.S., Lydy M.J., 2006. Aquatic effects of aerial spraying for mosquito control over an urban area. Environ. Sci. Technol. 40 (18): 5817–5822.
- Weston D.P., Ding Y., Zhang M., Lydy M.J., 2013. Identifying the cause of sediment toxicity in agricultural sediments: The role of pyrethroids and nine seldom-measured hydrophobic pesticides. Chemosphere 90: 958–964. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.06.039
- Weston D.P., You J., Harwood A.D., Lydy M.J., 2009. Whole sediment toxicity identification evaluation tools for pyrethroid insecticides: III. Temperature manipulation. Environmental Toxicology and Chemistry 28 (1): 173–180.
- Wogram J. & Liess M., 2001. Rank ordering of macroinvertebrate species sensitivity to toxic compounds, by comparison with that of *Daphnia magna*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 67: 360-367.
- Wood P.J. & Armitage P.D., 1997. Biological effects of fine sediment in the lotic environment. Environ. Manage. 21: 203–217.

- You J, Weston DP, Lydy MJ., 2004b. A Sonication Extraction Method for the Analysis of Pyrethroid, Organophosphate, and Organochlorine Pesticides from Sediment by Gas Chromatography with Electron-Capture Detection. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 47 (2): 141-147.
- You J., Schuler L.J., Lydy M.J., 2004a. Acute Toxicity of Sediment-Sorbed Endrin, Methoxychlor, and Endosulfan to *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*. Bull. Environmental Contamination and Toxicology 73: 457-464. doi:10.1007/s00128-004-0451-8
- Zhang X., Liu X., Zhang M., Dahlgren R.A., 2010. A review of vegetated buffers and meta-analysis of their mitigation efficacy in reducing nonpoint source pollution. Journal of Environmental Quality 39: 76–84.

Anexo

APÉNDICE A. Ensayos de toxicidad.

Tabla A1. Resultados de la distribución de sensibilidad de las especies para **clorpirifos**

Taxones	LC ₅₀ (µg/L)	Desviación St	Proporción de Taxones más sensible	Nº de Observaciones
<i>Daphnia ambigua</i>	0,037	0,033	0%	2
<i>Deleatidium sp.</i>	0,050		1%	1
<i>Hyalella azteca</i>	0,070	0,114	2%	15
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	0,070	0,113	3%	22
<i>Proclodon sp.</i>	0,081		3%	1
<i>Pseudagrion sp.</i>	0,100		4%	1
<i>Amphipoda</i>	0,110		5%	1
<i>Hyalella curvispina</i>	0,138		6%	1
<i>Paratya australiensis</i>	0,148	0,256	6%	10
<i>Palaemonetes pugio</i>	0,150		7%	2
<i>Hyalella curvispina</i>* (Mugni et al 2012 – Solis 2017)	0,221	0,351	8%	5
<i>Culex sitiens</i>	0,240		9%	1
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	0,299	0,463	9%	3
<i>Daphnia carinata</i>	0,300	0,137	10%	5
<i>Gammarus lacustris</i>	0,322	0,428	11%	3
<i>Culex restuans</i>	0,392	0,081	12%	3
<i>Culex tritaeniorhynchus ssp. summosus</i>	0,449	0,289	12%	6
<i>Simulium vittatum</i>	0,455	0,891	13%	7
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	0,458	0,260	14%	2
<i>Daphnia pulex</i>	0,471	0,622	15%	8
<i>Aedes togoi</i>	0,480		15%	1
<i>Daphnia longispina</i>	0,490	0,301	16%	2
<i>Palaemonetes argentinus</i>	0,490		17%	1
<i>Aedes sticticus</i>	0,500		18%	1
<i>Chironomus dilutus</i>	0,514	0,196	18%	4
<i>Culex tarsalis</i>	0,530	0,323	19%	5
<i>Thamnocephalus platyurus</i>	0,530		20%	1
<i>Aedes triseriatus</i>	0,532	0,375	21%	4
<i>Aedes canadensis</i>	0,549	0,276	21%	2
<i>Chironomus sp.</i>	0,600		22%	1
<i>Aedes atropalpus</i>	0,600		22%	1
<i>Simocephalus vetulus</i>	0,632	0,144	24%	2
<i>Cloeon dipterum</i>	0,658	0,209	24%	4
<i>Aedes vexans</i>	0,665	0,160	25%	3
<i>Culex pipiens ssp. pipiens</i>	0,666	0,330	26%	3
<i>Culex pipiens ssp. molestus</i>	0,736	0,365	27%	5
<i>Gammarus pulex</i>	0,752	0,591	27%	5
<i>Leptoceridae</i>	0,818	0,037	28%	2
<i>Chaoborus obscuripes</i>	0,845	0,390	29%	4
<i>Peltodytes sp.</i>	0,849	0,036	30%	2
<i>Paramelita nigroculus</i>	0,900		30%	1

<i>Macrobrachium lar</i>	0,961	0,354	31%	2
<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	1,000		32%	1
<i>Culex peus</i>	1,036	0,084	33%	4
<i>Culex pipiens ssp. quinquefasciata</i>	1,036	0,249	33%	13
<i>Culex melanurus</i>	1,037	0,352	34%	4
<i>Aedes cantans</i>	1,100		35%	1
<i>Anopheles stephensi</i>	1,123	0,402	36%	8
<i>Anisops sardeus</i>	1,192	0,173	36%	2
<i>Aedes communis</i>	1,200		37%	1
<i>Heptageniidae</i>	1,204	1,954	38%	2
<i>Globodera rostochiensis</i>	1,220	0,111	39%	4
<i>Chaoborus americanus</i>	1,290		39%	1
<i>Chironomus tepperi</i>	1,300		40%	1
<i>Gammarus fasciatus</i>	1,339	0,879	41%	2
<i>Maxillopoda</i>	1,415	0,251	42%	2
<i>Pteronarcella badia</i>	1,422	0,529	42%	3
<i>Anopheles freeborni</i>	1,579	0,220	43%	12
<i>Neoplea striola</i>	1,856	0,149	44%	6
<i>Chironomus utahensis</i>	1,981	0,377	45%	3
<i>Procambarus acutus ssp. acutus</i>	2,000		45%	1
<i>Claassenia sabulosa</i>	2,034	0,581	46%	3
<i>Laccophilus fasciatus</i>	2,100		47%	2
<i>Romanomermis culicivorax</i>	2,100		48%	1
<i>Sigara arguta</i>	2,160		48%	1
<i>Procladius sp.</i>	2,609	1,243	49%	3
<i>Chironomus tentans</i>	2,673	1,627	50%	5
<i>Aedes punctor</i>	2,700		51%	1
<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	2,791	0,057	52%	4
<i>Gammarus fossarum</i>	2,900		52%	1
<i>Culiseta incidens</i>	2,924	0,144	53%	6
<i>Culicoides variipennis</i>	3,023	0,128	54%	11
<i>Anopheles gambiae</i>	3,108	0,490	55%	2
<i>Anax imperator</i>	3,209	0,241	55%	4
<i>Aedes excrucians</i>	3,300		56%	1
<i>Culiseta annulata</i>	3,500		57%	1
<i>Diaptomus forbesi</i>	3,600		58%	2
<i>Triops longicaudatus</i>	4,000		58%	1
<i>Chironomus riparius</i>	4,395	2,442	59%	3
<i>Plea minutissima</i>	4,421	0,334	60%	4
<i>Laccophilus maculosus ssp. maculosus</i>	4,600		61%	1
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	4,753	0,951	61%	8
<i>Daphnia magna</i>	4,956	1,146	62%	16
<i>Chaoborus punctipennis</i>	5,400		63%	2
<i>Crocothemis erythraea</i>	5,800		64%	1
<i>Thermonectus basillaris</i>	6,000		64%	1
<i>Procambarus sp.</i>	7,400	0,568	65%	8

<i>Anopheles albimanus</i>	8,000		66%	1
<i>Asellus aquaticus</i>	8,096	0,036	67%	2
<i>Xanthocnemis zealandica</i>	8,440		67%	1
<i>Culex pipiens</i>	8,725	1,103	68%	51
<i>Ranatra linearis</i>	8,822	0,331	69%	4
<i>Berosus styliferus</i>	9,000		70%	1
<i>Plecoptera</i>	10,00		70%	1
<i>Odonata</i>	11,40		71%	1
<i>Glyptotendipes paripes</i>	12,00		72%	1
<i>Culex pipiens ssp. pallens</i>	12,06	1,493	73%	13
<i>Notonecta maculata</i>	13,02	0,242	73%	3
<i>Culex quinquefasciatus</i>	14,00	1,316	74%	45
<i>Belostoma sp.</i>	15,00		75%	1
<i>Dicrotendipes californicus</i>	16,73	0,535	76%	2
<i>Aedes aegypti</i>	17,33	0,870	76%	41
<i>Tropisternus lateralis</i>	20,40	0,575	77%	2
<i>Tanytarsus sp.</i>	20,78	2,065	78%	2
<i>Pteronarcys californica</i>	20,80	0,354	79%	3
<i>Chironomus decorus</i>	21,95	1,075	79%	6
<i>Hydrophilus triangularis</i>	24,49	0,124	80%	2
<i>Hydropsychidae</i>	30,00		81%	1
<i>Paraponyx stratiotata</i>	34,35	0,139	82%	4
<i>Notonecta undulata</i>	35,20		82%	2
<i>Hygrotus sp.</i>	40,00		83%	1
<i>Procambarus clarkii</i>	41,00		84%	1
<i>Cricotopus sp.</i>	42,37	0,710	85%	3
<i>Chironomus plumosus</i>	49,63	0,673	85%	15
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	52,00		86%	1
<i>Branchiura sowerbyi</i>	66,00		87%	2
<i>Eriocheir sinensis</i>	80,23	0,430	88%	8
<i>Hydrophilus sp.</i>	100,0		88%	1
<i>Spiralothelphusa hydrodroma</i>	156,9	0,088	89%	4
<i>Parathelphusidae</i>	156,9	0,088	89%	4
<i>Trichodactylus borellianus</i>	242,3		91%	1
<i>Dugesia japonica</i>	307,5	0,232	91%	4
<i>Goeldichironomus holoprasinus</i>	380,0		92%	1
<i>Zilchiopsis collastinensis</i>	441,4	0,636	93%	2
<i>Ozietelphusa senex ssp. senex</i>	552,0	0,230	94%	15
<i>Neocaridina denticulata</i>	631,2	0,177	94%	4
<i>Aedes albopictus</i>	666,4	0,928	95%	26
<i>Pomacea canaliculata</i>	978,0		96%	1
<i>Bulinus truncatus</i>	1320		97%	1
<i>Lanistes carinatus</i>	2710		97%	1
<i>Anopheles sinensis</i>	4700		98%	1
<i>Brachionus calyciflorus</i>	11950	0,003	99%	5
<i>Sialis lutaria</i>	21700		100%	1

Tabla A2. Resultados de la distribución de sensibilidad de las especies para **endosulfán**

Taxones	LC50 (µg/L)	Desviación St	Porcentaje de Taxones más sensible	Nº de Observaciones
<i>Mesocyclops longisetus</i>	0,018	0,069	1%	2
<i>Eucyclops sp.</i>	0,100		2%	1
<i>Alonella sp.</i>	0,200		4%	1
<i>Paratelphusa jacquemontii</i>	0,269	0,209	5%	4
<i>Palaemonetes paludosus</i>	0,337	0,123	6%	4
<i>Daphnia longispina</i>	0,346	0,088	8%	2
<i>Diaptomus sp.</i>	0,600		9%	1
<i>Atalophlebia australis</i>	0,685	0,096	11%	5
<i>Cheumatopsyche sp.</i>	0,832	0,327	12%	3
<i>Cypria sp.</i>	0,900		14%	1
<i>Amphipoda</i>	1,000		15%	1
<i>Caridina laevis</i>	1,558	0,260	16%	2
<i>Jappa kutera</i>	1,721	0,173	18%	8
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	2,543	0,765	19%	14
<i>Hyaella curvispina</i>	3,264		21%	1
<i>Macrobrachium lamarrei</i>	4,211	0,077	22%	4
<i>Macrobrachium dayanum</i>	5,043	0,075	24%	4
<i>Palaemonetes argentinus</i>	6,280		25%	1
<i>Gammarus lacustris</i>	6,671	0,095	26%	4
<i>Pteronarcys californica</i>	6,761	0,514	28%	3
<i>Gammarus fasciatus</i>	7,114	0,128	29%	3
<i>Hyaella azteca</i>	7,286	0,172	31%	3
<i>Asellus aquaticus</i>	10,00		32%	1
<i>Sigara alternata</i>	12,65	0,017	34%	2
<i>Caridina weberi</i>	12,74	0,353	35%	16
<i>Atalophlebia sp.</i>	12,93	0,031	36%	2
<i>Eretes sticticus</i>	15,81	0,281	38%	2
<i>Moina micrura</i>	16,20		39%	1
<i>Hyaella curvispina</i>* (Mugni et al 2012, 2015)	16,56	0,115	41%	4
<i>Paramelita nigroculus</i>	19,20		42%	1
<i>Enallagma sp.</i>	21,88	0,107	44%	3
<i>Spicodiptomus chelospinus</i>	44,72	0,069	45%	2
<i>Pseudagrion sp.</i>	46,00		46%	1
<i>Chironomus plumosus</i>	53,00		48%	1
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	53,30		49%	1
<i>Radix luteola</i>	60,00		51%	1
<i>Culex pipiens ssp. quinquefasciata</i>	66,00		52%	1
<i>Culex quinquefasciatus</i>	70,71	2,805	54%	4
<i>Procambarus clarkii</i>	100,8	0,881	55%	2
<i>Ischnura sp.</i>	138,1	0,206	56%	8
<i>Lamellidens marginalis</i>	139,2	1,705	58%	4
<i>Culex fatigans</i>	142,3	0,032	59%	2

<i>Lamellidens corrianus</i>	179,9	1,537	61%	4
<i>Ephemera orientalis</i>	224,0		62%	1
<i>Daphnia magna</i>	265,9	0,441	64%	28
<i>Daphnia pulex</i>	300,0		65%	1
<i>Crocothemis erythraea</i>	395,0		66%	1
<i>Anopheles stephensi</i>	473,4		68%	1
<i>Daphnia carinata</i>	478,0		69%	1
<i>Cambarus sp.</i>	500,0		71%	1
<i>Potamonautes sp.</i>	616,7	0,318	72%	4
<i>Hydra viridissima</i>	670,0		74%	1
<i>Moina macrocopa</i>	731,0	0,933	75%	2
<i>Hydra vulgaris</i>	810,0		76%	1
<i>Aedes aegypti</i>	1000		78%	1
<i>Bellamya dissimilis</i>	1800		79%	1
<i>Trichodactylus borellianus</i>	1906		81%	1
<i>Barytelphusa cunicularis</i>	2256	0,008	82%	3
<i>Lanistes carinatus</i>	3400		84%	1
<i>Radix natalensis</i>	4794	0,057	85%	2
<i>Brachionus calyciflorus</i>	5150		86%	4
<i>Tubifex tubifex</i>	6000		88%	1
<i>Physella acuta</i>	6400		89%	2
<i>Semisulcospira libertina</i>	7400		91%	1
<i>Oziotelphusa senex ssp. senex</i>	7735	0,129	92%	18
<i>Cipangopaludina malleata</i>	8500		94%	1
<i>Zilchiopsis collastinensis</i>	13469	1,202	95%	2
<i>Barytelphusa guerini</i>	17780		96%	1
<i>Indoplanorbis exustus</i>	21000		98%	1
<i>Melanopsis dufouri</i>	39892	0,030	99%	3

Tabla A3. Resultados de la distribución de sensibilidad de la especie para **cipermetrina**

Taxones	LC50 (µg/L)	Desviación St	Porcentaje de Taxones más sensible	Nº de Observaciones
<i>Palaemonetes argentinus</i>	0,002		1%	1
<i>Trichodactylus borellianus</i>	0,011	0,044	3%	4
<i>Tanytarsus sp.</i>	0,012		4%	1
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	0,031		6%	1
<i>Diaptomus forbesi</i>	0,032	0,058	8%	8
<i>Hyalella curvispina</i>	0,035		9%	1
<i>Hyalella curvispina</i> * (Mugni <i>et al</i> 2011b, 2012, 2013b)	0,046	0,370	11%	8
<i>Piona carnea</i>	0,050		13%	1
<i>Tanypus nubifer</i>	0,060		15%	1
<i>Culex fuscocephala</i>	0,063		16%	1
<i>Aedes vexans</i>	0,072		18%	1
<i>Culex restuans</i>	0,073		20%	1

<i>Ranatra filiformis</i>	0,082	0,119	22%	8
<i>Triops longicaudatus</i>	0,084		23%	1
<i>Gammarus pulex</i>	0,088	0,131	25%	6
<i>Culex pipiens</i>	0,100	0,345	27%	2
<i>Culex sp.</i>	0,102	0,505	28%	2
<i>Procambarus clarkii</i>	0,117	0,100	30%	10
<i>Procladius sp.</i>	0,130		32%	1
<i>Chaoborus sp.</i>	0,200		34%	1
<i>Caecidotea brevicauda</i>	0,200		34%	1
<i>Chironomus utahensis</i>	0,210		37%	1
<i>Aedes stimulans</i>	0,244	0,203	39%	3
<i>Clibanarius africanus</i>	0,309		41%	1
<i>Cricotopus sp.</i>	0,388	0,118	42%	2
<i>Goeldichironomus holoprasinus</i>	0,548	0,056	44%	2
<i>Cloeon dipterum</i>	0,600		46%	1
<i>Glyptotendipes paripes</i>	0,700		47%	2
<i>Acartia tonsa</i>	0,750		49%	1
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0,795	1,062	51%	13
<i>Thamnocephalus platyurus</i>	0,829		53%	1
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	0,889		54%	1
<i>Macrobrachium lar</i>	1,193	0,067	56%	2
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	1,217	0,589	58%	3
<i>Heptageniidae</i>	1,300		59%	1
<i>Odonata</i>	1,400		61%	1
<i>Hydropsychidae</i>	1,400		61%	1
<i>Chironomus decorus</i>	1,580	0,277	65%	4
<i>Anopheles stephensi</i>	1,900		66%	1
<i>Culex pipiens ssp. quinquefasciata</i>	2,027	0,579	68%	2
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	2,245	0,385	70%	2
<i>Aedes aegypti</i>	2,561	0,947	72%	29
<i>Dicrotendipes californicus</i>	3,955	0,093	73%	2
<i>Ephemera orientalis</i>	4,500		75%	1
<i>Hydrophilus sp.</i>	8,300		77%	1
<i>Culex pipiens ssp. pallens</i>	8,392	0,869	78%	17
<i>Simulium vittatum</i>	9,800		80%	1
<i>Daphnia magna</i>	12,80	1,502	82%	13
<i>Thermocyclops oblongatus</i>	29,00		84%	1
<i>Unio elongatulus ssp. eucirrus</i>	76,37	0,106	85%	3
<i>Branchiura sowerbyi</i>	96,68	0,282	87%	8
<i>Brachionus calyciflorus</i>	140,8	1,951	89%	2
<i>Aedes albopictus</i>	465,6	0,663	91%	17
<i>Lymnaea acuminata</i>	514,6	0,153	92%	4
<i>Anopheles sinensis</i>	1600		94%	1
<i>Ozietelphusa senex ssp. senex</i>	2000		96%	1
<i>Melanoides tuberculata</i>	5847	0,266	97%	4
<i>Lamellidens marginalis</i>	26485	0,084	99%	4

Tabla A4. Resultados de la distribución de sensibilidad de la especie para **lambda-cialotrina**

Taxones	LC ₅₀ (µg/L)	Desviación St	Porcentaje de Taxones más sensible	Nº de Observaciones
<i>Hyalella curvispina</i>	0,004		2%	1
<i>Macrobrachium lar</i>	0,008	0,269	5%	2
<i>Pseudodiaptomus forbesi</i>	0,017		8%	1
<i>Notonecta glauca</i>	0,019	0,098	11%	2
<i>Eurytemora affinis</i>	0,019		15%	1
<i>Chironomus dilutus</i>	0,022	0,343	18%	2
<i>Anisops sardeus</i>	0,025	0,012	21%	2
<i>Gammarus pulex</i>	0,028	0,080	24%	2
<i>Macrobrachium nipponense</i>	0,034	0,219	27%	6
<i>Sigara striata</i>	0,049		31%	1
<i>Proasellus coxalis</i>	0,059	0,175	34%	2
<i>Chaoborus obscuripes</i>	0,076		37%	1
<i>Caenis horaria</i>	0,094	0,616	40%	2
<i>Asellus aquaticus</i>	0,103	0,191	44%	2
<i>Cloeon dipterum</i>	0,113	0,046	47%	2
<i>Culex annulirostris</i>	0,130		50%	1
<i>Procambarus clarkii</i>	0,160		53%	1
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	0,300		56%	1
<i>Daphnia galeata</i>	0,397		60%	1
<i>Caridina laevis</i>	0,536	0,298	63%	2
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0,665	1,417	66%	5
<i>Macropelopia sp.</i>	0,843	0,116	69%	2
<i>Erythromma viridulum</i>	0,883	0,358	73%	2
<i>Daphnia magna</i>	1,040		76%	1
<i>Simocephalus vetulus</i>	1,340		79%	1
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	1,562	0,227	82%	2
<i>Aedes aegypti</i>	3,100	0,904	85%	22
<i>Culex pipiens</i>	52,493	0,125	89%	3
<i>Anopheles sinensis</i>	80,000		92%	1
<i>Anopheles stephensi</i>	258,836	0,881	95%	5
<i>Aedes albopictus</i>	605,073	0,411	98%	16

APÉNDICE B. Estudios de campo

Tabla B1. Planilla de campo utilizada en Paraguay y Brasil.

Sitio _____ Coordenadas _____
 Fecha _____ Hora _____ Personas _____
 Descripción _____
 Muestreo: aguas Arriba del puente: _____ m ó Abajo del puente: _____ m
 Clima: _____ Temp. ambiental: _____ Fecha última lluvia: _____

Muestras para análisis: Sedimento – textura/metales/COT _____ Pesticidas _____

Muestra de organismos: sustratos: _____

Método de muestreo: _____

Calidad de agua: Temp. (°C) _____ Conduct (uS/com) _____ pH _____

DO (mg/L) _____ Turbidez (NTU) _____ Olor _____

Amonio (mg/L)	< 0.5	0.5-1	1-5	5-10

Nitrato (ppm)	<1	1-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-15

Fósforo (ppm)			
<0.1		1 – 2	
0.1 – 0.2		2 – 3	
0.2 – 0.3		3 – 4	
0.3 – 0.4		4 – 5	
0.4 – 0.6		5 – 6	
0.6 – 0.8		6 – 7	
0.8 - 1		7 – 8	
		8 - 10	

Hidrología: Veloc. prom. (m/s) _____ máx. _____

Ancho para caudal (m) _____ Ancho máx. (m) _____ Ancho típico (m) _____

Profundidad máx. (m) para caudal (m) _____ Prof. típica (m) _____

Canalizado _____ % sombra _____

Tipo de hábitat: Rápido % _____ Corredera % _____ Pozón % _____ (100% total)

MO: MOPF % _____ MOPG % _____

Vegetación: Emergente _____ Sumergida _____

Flotante _____ Árboles _____

Mapa/dibujo: mostrar: Cosechas y franja (m) – aguas arriba y abajo del puente (2 lados del arroyo), pastura, otro uso de tierra. (Ver reverso).

Sitio _____ Fecha _____

Conteo del sustrato (mm): (entrar una marca para cada uno, total de 100)

Tamaño	Incrustado	Suelto
< 4		
4 – 5,7		
5,7 – 8		
8 – 11,3		
11,3 – 16		
16 – 22,6		
22,6 - 32		
32 – 45		
45 – 64		
64 – 90		
90 – 128		
128 – 181		
181 – 256		
256 – 362		
362 – 512		
>512		

RBP (evaluación de la calidad del hábitat)

Parámetros	Óptimo					Subóptimo					Marginal					Deficiente				
	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Sustrato /cobertura																				
Variabilidad del lecho																				
Velocidad/profundidad																				
Depósitos de sedimento																				
Caudal																				
Alteración de canal																				
Frecuencia de rápidos																				
Estabilidad de las orillas																				
Protección de vegetación izquierda																				
Protección de vegetación derecha																				
Ancho de vegetación izquierda																				
Ancho de vegetación derecha																				

Tabla B2. Resultado de la evaluación de la calidad del hábitat (RBP) de los sitios de Paraguay y Brasil, siguiendo la metodología de Barbour *et al.*, 1999.

Evaluación de la calidad del hábitat (RBP)														
Sitio	Sust / cober	Lecho	Veloc / prof	depos sedim	caudal	Canal	Rápidos	Orillas	Prot veg izq	Prot veg der	Ancho veg izq	Ancho veg der	Total	
Paraguay	P1	14	14	14	10	18	20	16	16	10	10	10	10	162
	P2	16	16	15	17	18	20	16	16	10	10	10	10	174
	P3	14	12	14	12	18	20	12	15	10	10	10	10	157
	P4	15	18	15	18	18	20	16	16	2,5	2,5	2,5	2,5	146
	P5	13	16	15	16	18	20	18	16	10	10	10	10	172
	P6	10	6	13	5	18	20	10	11	10	10	10	10	133
	P7	18	18	16	18	18	20	16	18	10	10	10	10	182
	P8	10	16	13	15	18	20	13	15	5	5	5	5	140
	P9	15	16	14	16	18	20	18	16	9	9	9	9	169
	P10	17	16	15	16	18	20	13	15	6,5	10	6,5	10	163
	P11	15	17	15	18	18	20	16	15	8	8	7	8	165
	P13	15	16	14	16	18	20	17	15	7,5	7,5	7,5	7,5	161
	P14	10	16	11	18	18	20	15	16	6,5	10	6,5	10	157
	P15	10	5	6	5	18	20	1	10	1	1	1	1	79
	P16	15	14	16	11	18	20	13	15	10	3	10	3	148
	P17	16	16	15	16	18	20	16	16	5,5	5,5	4,5	4,5	153
	Brasil	B2	18	14	14	16	18	20	14	13	10	10	10	10
B3		16	17	11	11	18	20	9	11	10	10	10	10	153
B7		15	14	16	17	18	20	16	15	10	10	8	8	167
B10		16	14	15	14	18	20	15	10	5	5	1	1	134
B11		19	17	11	15	18	20	19	16	10	10	6,5	6,5	168
B12		15	16	11	11	18	20	7	11	10	10	10	10	149
B13		15	16	14	18	18	20	16	19	10	10	10	10	176
B14		20	14	14	18	18	20	18	18	10	10	10	10	180
B15		11	13	10	15	18	20	8	8	10	10	10	10	143
B16		11	12	13	11	20	20	13	17	10	10	10	10	157
B17		15	14	15	14	18	20	15	18	10	10	10	10	169
B18		11	13	13	15	18	20	18	16	10	10	10	10	164
B19		16	14	13	16	18	20	16	15	10	10	10	10	168
B20		15	15	14	16	18	20	12	11	10	10	10	10	161
B21		13	15	14	13	18	20	13	13	10	10	10	10	159
B22		18	15	11	18	18	20	20	11	10	10	10	10	171
B23		18	15	14	15	18	20	19	12	10	10	10	10	171
B24	16	14	11	15	18	20	18	11	10	10	10	10	163	

Sust / cober: Sustrato / Cobertura, Lecho: variabilidad del lecho, Veloc / prof : velocidad / profundidad, Depos sedim: depósitos de sedimento, Canal: alteración del canal, Rápidos: frecuencia de rápidos, Orillas: estabilidad de las orillas, Prot veg izq: protección de la vegetación izquierda, Prot veg der: protección de la vegetación derecha, Ancho veg izq: ancho de la vegetación izquierda, Ancho veg der: ancho de la vegetación derecha.